平成18年度　医療機器開発ガイドライン策定事業　テーラーメイド医療用診断機器　開発ＷＧ報告書　平成19年３月　独立行政法人　産業技術総合研究所

平成 18 年度経済産業省委託事業

平成１８年度戦略的技術開発委託費
医療機器開発ガイドライン策定事業
（医療機器に関する技術ガイドライン作成のための支援事業）

医療機器評価指標ガイドライン
テーラーメイド医療用診断機器分野（ＤＮＡチップ）
開発ＷＧ報告書

平成１９年３月

独立行政法人 産業技術総合研究所

テーラーメイド医療用診断機器（ＤＮＡチップ）開発WG委員名簿

（敬称略、五十音順）

油谷　浩幸	東京大学　先端科学技術研究センター　教授
楠岡　英雄	独立行政法人国立病院機構　大阪医療センター 副院長　（生体医工学会推薦）
桑　克彦	筑波大学大学院　人間総合科学研究科　助教授
源間　信弘	株式会社東芝　研究開発センター　技監
佐藤　宰	第一化学薬品㈱　研究開発統括部国際開発部 企画開発グループ長
林　慎一　（座長）	東北大学医学部　保健学科分子検査学分野　教授
山藤　清隆	財団法人かずさDNA研究所　新事業開発委員

開発WG事務局

木山　亮一　（独）産業技術総合研究所　シグナル分子研究ラボ　主任研究員

目　次

参考資料

１．当該技術分野の概要と事業の意義

1.1 「テーラーメイド医療用診断機器」ガイドライン事業の目的

本事業は、ヒトゲノム計画の終了とともにポストゲノムの研究開発課題として大きな分野を形成しつつある「テーラーメイド医療用診断機器」分野において、今後ますます重要になるゲノムや遺伝子をもとにした個人識別、個体差、あるいは病歴や体質など個人のゲノム／遺伝子情報をもとにした診断や治療（テーラーメイド医療）を支援するために開発される医療機器に関する開発ガイドラインを作成することを目的とする。当該分野「テーラーメイド医療用診断機器」は、第４回次世代医療機器開発ガイドライン検討委員会（経済産業省）と次世代医療機器評価指標検討会（厚生労働省）において新たな検討分野として追加された。これを受けて、本 WG では、各学会、企業、大学や公的研究機関などに所属する合計７名に開発 WG 専門委員を委嘱し、開発の迅速化を図るために開発の段階から利用できるガイドラインの策定を進め、厚生労働省とも連携をとりながら、計４回の WG 会議を開催した。

テーラーメイド医療用診断機器として最も開発が進んでいる機器のひとつとして DNA チップがあげられる。2004 年にはロッシュモレキュラーダイアグノスティックス（ロッシュ）社が遺伝子多型判定をもとにした薬剤代謝能を診断する DNA チップについて米国 FDA（アメリカ食品医薬品局）の承認を得た（「1.2.2 米国における診断用 DNA チップの状況」項参照）。その後、今年まで体外診断薬（遺伝子診断キット）としては新しい DNA チップの認可はされていなかったが、薬事申請の際のボランタリーサブミッションデータとしては、DNA チップデータ数は急速に伸びている（NATURE BIOTECHNOLOGY, Vol.24, No.9, 2006, 1105-1107）。このため、DNA チップデータの信頼性を検討する必要が急速に高まり、米国では FDA の陣頭指揮のもと 51 の大学・企業などによりマイクロアレイ品質管理（MAQC）コンソーシアムが 2005 年に設立され、1300 枚以上の DNA チップを用いたデータ取得とその解析により DNA チップの標準化が進められている。また、市場規模は 2005 年では全世界で 14 億ドルにも達しており、今後、さらに伸びると予想されている（「2007 年版ワールドワイド・バイオチップ&装置市場の動向と展望」；Fuji-Keizai USA）。このような点から、本事業では「テーラーメイド医療用診断機器」として診断用 DNA チップをとりあげて、ガイドラインを策定する。

1.2 テーラーメイド医療用診断機器（DNA チップ）に関する現状

1.2.1 我が国における体外診断薬承認の現状

体外診断用医薬品の承認において、体外診断薬は低リスクと高リスクに分けて承認を受ける。アメリカでは低リスクのものは 510(k)（注１）で、その他は市販前承認申請書（PMA）（注２）により承認される。EU は自己認証か、第三者登録認証機関による認証になる。我が国では、平成１７年４月より前の薬事法では体外診断用医薬品は大臣承認が必要だったが、現在は、それぞれ自己認証、第三者認証、大臣承認という３つのカテゴリーに分けて、それぞれのリスクに応じて承認審査を行っている。薬事法に基づく体外診断医薬品として DNA チップは、目的としては各種生体機能の程度の診断、対象としては核酸の検出又は測定となる。将来的には、血液型、細胞型の診断に並んで遺伝子型のガイドラインができるものと予想される。

我が国において薬事法における資料として必要な内容は、医薬食品局長通知と医療機器審査管理室長通知である。医薬食品局長通知では、体外診断用医薬品を製造・販売・承認申請するときに必要な資料を規定している。たとえば、起原又は発見の経緯、外国における使用状況等、また仕様の設定・安定性・性能・リスク分析・製造方法などの法定事項の提出を求めている。さらに、医療機器審査管理室長通知において、それらの項目の詳細を説明している。今回作成する医療機器開発ガイドラインは、これらの法定事項を想定しつつ、次世代の医療機器を審査もしくは開発する際に必要となるガイドラインを作成する。そのために、本事業において、日本の法体系だけでなく、FDA などのガイダンスや国内外の研究動向などを総合的に検討してガイドラインを策定する。また、日本の臨床現場や医療環境全体を考慮し、今後の保険収載や企業に対するインセンティブ、臨床的意義など、幅広い観点から検討を加える。

（注１）510(k)：米国食品医薬品局（FDA）の規制下にある医療用製品に関して記載した法律のセクション番号に基づいた名称で、製造者が一定の分類に属する医療機器の市販の意図を FDA へ知らせる届出。

（注２）PMA：市販前承認申請書（Premarket Approval）の略で、一定の分類に属する医療機器を市販するための承認申請書。

1.2.2 米国における診断用 DNA チップの現状

2003 年 6 月、ロッシュモレキュラーダイアグノスティックス（ロッシュ）社がアフィメトリックス社のプラットフォーム技術を利用したアンプリチップ CYP450 を開発した。これは、DNA チップが研究用から臨床診断へ移行しつつあることを意味し、アンプリチップは世界最初の臨床応用に向けたファーマコゲノミクスマイクロアレイとなった。しかし、同時に、診断用 DNA チップに関する FDA の規制の問題点が明らかになった。

アンプリチップ CYP450 は 患者に医薬品の最適な投与量を決定するため、薬物代謝において主要な役割を演ずる 2 つの遺伝子、CYP2D6 と CYP2C19 の遺伝的多型を判定する DNA チップであり、研究用途としてのみ販売されており、臨床診断用に承認された診断機器（インビトロ診断機器：IVD）ではない。ロッシュ社は、当初、アンプリチップを FDA 審査の適用除外の分析専用の試薬（Analyte-Specific Reagent：ASR）として、臨床試験研究所へ販売することを考えていた。ASR は診断試験における試薬のひとつで、抗体や核酸などと同じものである。試薬は、一般的に、生命を脅かす疾病の血液スクリーニングや診断に含まれない限り、企業が市場投入前に FDA へ通知する必要はない。一方で、患者診断用のアッセイは、FDA ではなく、臨床試験研究所整備法（CLIA）によって規制される。

FDA は、アンプリチップの ASR 指定に問題があると考え、2003 年 11 月に、DNA チップが診断用として販売されるためには FDA 審査を受ける必要があると決定した。理由は、公衆衛生にとって影響が大きいので、従来の ASR よりも厳しく規制されるべきだというものである。その背景としては、DNA チップは ASR として販売されてきたが、診断用 DNA チップは今後急激に市場が拡大していくと予想されるので、規制についても明確にする必要が生じたためである。しかし、FDA はいまのところ、商用 DNA チップを ASR と見なすのか、診断機器として承認が必要かについて、明示していない。それを判断する基準は、DNA チップが取扱説明書や宣伝文句なしで、試薬としてラボへ供給することができるかどうかである。また、DNA チップを診断薬として認めるために大きな問題となる点のひとつは、プラットフォームの標準化である。アフィメトリックスのチップ、アジレントテクノロジーのチップ、そして自家製チップの間で、測定結果に著しい不一致があるため、診断薬として基準を満たさないという可能性もある。

その後、ロッシュ社はアンプリチップを ASR として販売するのを止め、研究用の地位に格下げし、公式のインビトロ診断機器の市場投入前通告を当局へ提出した。FDA は、その用途及び既存 IDV との類似性に基づいて、アンプリチップをクラス分類することになる。DNA チップがどのように規制されるかは、実際に何を行うかによる。新規用途のために用いられる場合、クラスⅡ機器に分類される。しかし、安全性への影響が大きくない場合や、確立した前例が既に市場にある場合には、審査がより簡便になることも考えられる。

アンプリチップに含まれるチトクローム P450 酵素遺伝子は、検証済みのファーマコジェネティクスバイオマーカーのひとつとして考えられている。FDA は現在、DNA チップを含む複合的診断アッセイへの利用を想定して、ドラフトガイダンスを発表している(http://www.fda.gov/cdrh/oivd/guidance/1210.html)。これは、遺伝子発現プロファイリングによる臨床診断についても想定している。

FDA は、DNA チップを用いた試験が実際に機能するか、さらに、実際に用いることができるよう製品にラベルを貼付できるかを検討している。しかし、最近の報告書(http://www.fda.gov/oc/initiatives/criticalpath/whitepaper.html)によると、医薬品の安全性と効能の判断材料を提供することが期待される診断用 DNA チップの開発は、もっと効率的に革新的医薬品を市場に上梓する基盤になるであろうと考えている。この点、DNA チップとその関連技術を本格的な臨床上の位置付けへ持ち込むことの損得は、医療機器関連の問題を超えて、もっと総合的な規制上の戦略が求められる。DNA チップを用いた臨床医薬品の開発における研究が、DNA チップに基づく臨床試験の応用の開発と一緒に調整されていることを踏まえると、両者の間に規制フレームワークの共有が望ましいばかりでなく、必要となる。

（参考文献）Modern Drug Discovery 誌「アレイと FDA」（2004 年 6 月）

1.2.3 米国 FDA によるクラス II 特別規制ガイダンスの例

本項では、米国 FDA によるクラス II 体外診断薬の特別規制ガイダンスの例として、「クラス II 特別規制ガイダンス文書：薬剤代謝酵素遺伝子型同定システム」（Class II Special Controls Guidance Document-Drug Metabolizing Enzyme Genotyping System-）の要約を記す。

（1）イントロダクション

・ガイドラインの目的

–薬物代謝酵素ジェノタイピングシステムをクラス II に分類することの支援

–Class II ： Special Control

http://www.fda.gov/cdrh/devadvice/3132.html

・薬物代謝酵素ジェノタイピングシステムとは？

–薬物代謝酵素をエンコードするヒトジェノタイプマーカの有無判別をテストするためのデバイス

（2）背景

・製造業者への要求

–市販前通知を含めて、統制規則に従う

–薬物動態代謝酵素の健康へのリスクの明確化

–デバイス市販化に先駆けて FDA から十分な判定を受ける

・カバーシート

−510(k) の申請であることの明記

・添付文書記載

−デバイスや使用目的、使用方法を示す

・サマリーレポート

−サマリーレポートの推奨項目

・デバイス、使用目的

・デバイスデザイン

−デバイスや性能仕様

・リスク分析

−デバイスデザインや分析結果と同様に、デバイス使用に関連する健康リスクのプロファイル評　価

・デバイス特徴

−考えられるリスク

・テスト方法

−テスト結果、許容範囲

・準拠標準

−デバイスデザイン、テストで準拠した標準

（３）健康へのリスク

・使用が薦められないケース

−多型による薬物代謝酵素活性が分かっていない

−薬物の代謝パスウェイが明確にされていない

（４）デバイスに関する記述

・使用目的

−ジェノタイプによってエンコードされる薬物代謝酵素を特定すべき

−複数の薬物代謝酵素が載っているようなケースでは、薬物代謝酵素毎にテストと申請が必要

・テストアルゴリズム

−同一遺伝子上で多数の変異が知られており、それらのいくつかは多型に共通である前提

・テスト結果

−臨床医向けに作成されたテストレポート例を提供すべき

・テスト方法

−方法詳細

−テストプラットフォーム(装置など)

−アレイのレイアウト

−プローブ固定方法

−シーケンス

-ハイブリ条件、ウオッシュ手順、乾燥条件(温度、時間など)
-プローブシーケンス(シュード遺伝子や相同遺伝子などがある場合)
-推奨されるDNA抽出方法
-アッセイのバッファ、酵素、蛍光色素や信号増幅試薬など
-推奨される外部標準(External Controls)
-内部標準(Internal Controls)
・QCコントロール
-正しい設置や装置性能の開示(プローブなど)
-クロスハイブリダイゼーション
-(製造過程での)プローブのクロスコンタミネーション

（５）性能に関する特徴
・解析前要素
-DNA抽出や準備の試薬提供
試薬提供する場合は、再現性、精度、安定性に関及ぼす効果を全てのステップで検証すべき
試薬提供しない場合は、適切な試薬を選択できるように仕様を示すべき
-保存条件
サンプル及び抽出物の保存条件を検証すべき
・品質管理(QC)
-ポジティブ、ネガティブコントロールの双方を含むべき
-QC、キャリブレーション手順を構築した手法、及び推奨される頻度
・解析要素
-感受性、アッセイ限界
精度と正確性をもってジェノタイプ同定できるゲノムDNAの下限濃度
下限ゲノムDNA量を確保するための臨床サンプル量
様々な濃度にてコンタミさせたゲノムDNAを用いて、感受性を決定することを推奨
DNAレベル毎に統計処理
上限となるDNA濃度やサンプル量
-干渉
クロスコンタミネーション評価
相同配列へのクロス反応評価
干渉物質評価：血清中に含まれる脂質やヘモグロビン、普通薬による外部要因由来の化合物などにより干渉評価
-正確さ(再現性)
同一サンプル、及びサンプル間での再現性を検証する試験デザイン
複数のDNA濃度の適切なサンプルを用いるべき
全血などの実際のサンプルを、添付文章にて推奨される施設にて再現性を保証

（６）方法比較

・方法比較

-臨床環境にて機能することを示すため、利用目的の患者サンプルを用いられるべき

-潜在利用者を反映した 3 施設以上にて実施すべき

-比較可能な手法がないときは、双方向 DNA シーケンス結果と比較評価すべき

・臨床バリデーション

-科学的根拠や臨床におけるデバイスの妥当性、利用性を支持するエビデンスが有る場合には、臨床的妥当性を決定する臨床試験は不要かもしれない

-文献が十分でない場合は、デバイスのクレームを指示するための試験実施すべき

-薬物代謝酵素と臨床試験における薬物代謝プロファイルの相関を実演すべき

・試験サンプル

-文献等で検証されている『バンク』の明らかになっているサンプルは利用可能

-同時に臨床サンプルについても評価すべき

-十分な数のマイナーアレルのサンプルを集めることが出来ない場合は、統計的決定できるだけ複製して試験する

・サンプル収集、取り扱い条件

-検証すべき事項：サンプル安定性、保存回数や温度からの回復を見積るサンプル保存、輸送条件

（７）ソフトウェア

・ソフトウェアデザイン

-個人情報、セキュリティに留意

・危険分析

-患者レポート、装置故障、操作者安全に関するサブシステム構成の欠陥

　シグナル同定、分析

　データ保管

　システム通信

　サイバーセキュリティ

・検査（Verification）及び検証（Validation）

-その他の装置との互換性

・バージョン

-バージョン間の差異による安全性、効果の違いを示す

（８）添付文書記載

・使用方法

・結果解釈

-Phenotype 定義：例えば CYP2D6 のケースでは、Extensive、Intermediate、Poor、Ultrarapid Metabolizer を明確にする

・期待される値

-民族、人種を考慮した遺伝子多型の例数

・品質管理(QC)

-推奨される QC

・解釈のための留意点

-多くの薬物代謝酵素のジェノタイピングシステムは、次の点を明記すべき

ジェノタイピング結果は、治療決定のためにルーチンなモニタリングと併用しての補足ツールとしてのみ利用されるべき

薬物によって多型の効果は大きく異なる

多型の薬物動態酵素活性が明確でない、もしくは代謝パスウェイが明確でないケースでは、患者の反応予測に用いられるべきではない

・性能に関する特徴

-デバイスパフォーマンスの記述

双方向 DNA シーケンスのような gold standard method との比較

シーケンス測定と対応させたテーブルでのジェノタイピング精度表示

オーバーオールの結果だけではなく、特定の変異に対する結果表示

1.3 DNA チップの技術的問題点

ジェノタイピングに関する DNA チップの問題として、ある薬に関係する遺伝子を解析した場合、一旦測れば再び測る必要がないが、他社が同じ遺伝子を違う薬に対する遺伝子として申請した場合にどのように扱うかが問題になる。承認は可能であるが、同じ遺伝子を繰り返し測定するため、医療資源を無駄に使うことになる。そうすると医療費を上げることになり、保険適用などの際にどのように扱うかが問題になる。また、ジェノタイプを決定するにはゴールデンスタンダードとして、全部シーケンスをやれば良いが、多くの検体について多くの遺伝子をタイピングする場合に DNA チップがどれくらい有利になるのかも考慮する必要がある。

発現プロファイルは、乳がんでは進んでいるが、問題が多い。プラットホームやプロトコールの精度は非常に高いが、サンプルのＲＮＡの質の確保と施設間や検査実施者間の差が問題になる。例えば、がんのサンプルは、がん細胞と周りの間質細胞が混在しており、がん細胞が 90%占めるサンプルと 10%のサンプルがあり、測定結果の再現性に影響する。今の臨床技術で解決するためにはマイクロダイセクションが必要だが、ルーチンワークには適さない。このような点も検討する必要がある。

２．平成１８年度の検討結果

「テーラーメイド医療用診断機器（ＤＮＡチップ）開発ガイドライン 2007」
ー遺伝子型（ジェノタイピング）検定用 DNA チップに関してー

2.1 概要

2.1.1　遺伝子型検定用 DNA チップとは

DNA マイクロアレイチップとは、基板上に多数の DNA の部分配列を高密度に配置、固定したものである。これによってゲノムレベルの網羅的解析や特定のグループに属する多数の遺伝子を一度に解析することが可能となる。遺伝子型検定用 DNA チップとは、その中でも特にゲノム DNA を検討対象として遺伝子の多型や変異などを解析するものをいう。具体的には、各種素材の基板上に、ゲノム DNA 配列をコードする 20 塩基前後から 50〜60 塩基ぐらいの短いオリゴプローブを重合、もしくは貼り付けたもの等がある。これらを微小なビーズ上に固定したものなどもあり得る。これらのプローブと検体標品とのハイブリダイゼーションあるいはさらに伸長反応させた結果をレーザー光や電気化学的手法などによって検出する。

2.1.2　本ガイドラインの目的と範囲

近年、技術的進歩の著しい、DNA マイクロアレイチップ及びその装置は、あらゆる疾患の検査や診断用、あるいは治療法開発用の次世代医療機器として大きく期待されている。一方現在、本法は研究用として急速に普及しつつあるものの、そのデータの信頼性、再現性、標準化など、臨床応用にはまだ問題が多い。そこで医療機器としての DNA チップの開発意欲の向上、機器開発の促進・活性化を目的として、その指標となるようにガイドラインを策定する。

また、DNA チップは最終的な診断装置（臨床試験のエビデンスも踏まえたもの）としてのガイドラインは早計と認識し、臨床検査装置としてガイドラインの策定を行う。

臨床検査や診断目的で遺伝子型判定 DNA マイクロアレイを用いるにはデータの再現性や高い精度が重要であり、判定ミスや曖昧さを極力排除しなければならない。また、臨床使用上の視点、患者の負担やリスクの軽減なども十分考慮しなければならない。高性能な測定装置の開発だけでなく、データの互換性や分解能、精度の向上のためには標準化が不可欠と考えられ、また評価方法についても指針が必要と思われる。そこで、本ガイドラインは、測定装置、評価法、標準化と大きく 3 つの項目に分けて策定した。

2.1.3　検査対象と想定されるリスク

検査対象は、遺伝子型検査を希望する一般健常人及び患者であり、疾患の罹患リスクの判定、疾患の診断、治療法の選択等の参考になるデータを供給するものである。

正しい遺伝子型検査が行われなければ、個々人に応じた的確な診断、治療が行われない可能性が高まり、誤診断や再発、副作用の増大等に繋がる。一方、遺伝子型検査のみに判断を頼るのは危険であり、他の既存の各種臨床検査結果と医師による観察、診察の情報とを併せて判断すべきである。現時点ではあくまで意思

決定のための参考であり、補完資料と捉えるべきである。また、遺伝子型検査結果は重要な個人情報であり、その取り扱いには十分な注意を要する。

2.2 測定装置(チップと装置)

2.2.1 国内外の開発と普及の現状

DNA チップでは、DNA の検出に、蛍光方式、電気化学検出方式、質量分析方式、表面プラズモン共鳴方式など様々な方式が用いられている。普及という意味で先行しているのは、蛍光検出方式である。Affymetrix 社や Agilent 社の DNA チップが、アメリカのみならず日本でも市場シェアの多くを占めている。蛍光方式の DNA チップは、従来主に研究用途で用いられてきたが、代謝酵素(CYP2C19、2D6)の SNPs を判定する DNA チップが FDA で承認され、本格的に診断で用いられる可能性が高まりつつある。国内の DNA チップメーカも、種々の方式のチップを開発し、様々な用途への展開を目指しているのが現状である。

2.2.2 原理と構造

⑴DNA の検出原理

DNA の検出方式、装置で検出する蛍光信号や電気化学信号などの出力信号を生み出す機構について技術的に検討する。

⑵チップと装置の構造

DNA チップについては、基板や DNA プローブなどチップを構成する主要素の仕様や形状・サイズなどについても検討する。

装置に関しては、装置本体の構成、装置を構成する各構成要素の仕様、機能の概略などについて検討する。

2.2.3 方法

⑴検出の概要

プロトコール、即ち検体サンプルの準備から、検出・判定に至る全工程の流れ、特に、チップ･装置に導入する前の工程である、DNA 抽出、DNA 増幅、サンプル DNA のチップ・装置へのセッティング、装置での処理手順、信号から型判定を導く工程について技術的に検討することが必要である。装置での処理は、マニュアル操作と自動操作の区別も明記し、操作におけるリスクについても検討することが望ましい。

⑵装置の機能

検出特性に影響を与える可能性の高い、温度制御機構、試薬送液機構、測定系、機械動作機構などは、各機構の動作、性能、役割を技術的に評価することが望まれる。

2.2.4 特異性、感度、ダイナミックレンジ、再現性

⑴特異性

他の手法の解析により配列が既知の試料を用い、型判定を実施し一致率を表記する。検査するサンプルは、可能な限り、対象となる全ての対立遺伝子を含むこと。稀な遺伝子型のサンプルを取得できない場合は、ゲ

ノムDNAの混合物、またクローン混合物を使用しても良いが、これらのサンプルの組成は、可能な限り実際の臨床サンプルのタンパク質及びDNAの質や量と類似となるよう設定するべきである。また、交差反応を示す相同遺伝子配列に対する解析特異性に関しては、評価結果から遺伝子型判定に関する安定性について検討することが望ましい。

なお、対照となる実験として、「３．評価法」に詳しく述べられているように、双方向のDNA シーケンシングの結果を利用することが望ましい。不一致があった場合、その結果を説明することが望ましい。なお対照実験は双方向のDNA シーケンシングに限定するものではなく、各変異に対して論文等で一般的に知られている適切な方法でもよい。

⑵感度・ダイナミックレンジ

様々な濃度のゲノムDNAについて試験を行い、検出限界濃度を判定することが望ましい。遺伝子型判定が所定の精度で行われるような、ゲノムDNAの濃度は明記することが望ましい。またこのゲノムDNAを確保するために必要な臨床サンプルの量を概算すべきである。

⑶再現性

DNAチップ、及びその検査システムの再現性は十分に検証すべきである。再現性試験は、以下のような項目について行うことが望ましい。

・アッセイ内、アッセイ間、双方の再現性について検証すること
・適切なサンプルを使用し、複数の濃度のサンプルを使用すること
・検査するサンプルを用いて、有意義な再現性を統計学的に判断できるよう検査を実施するべき
・複数の作業者で、３箇所以上の施設で実施されること。
・再現性試験で使用される手順が、添付文書に記載される予定の手順と同様であること
・複数の製品ロット、複数の器具を使用すること

⑷検査の品質管理

適切な陽性コントロール、陰性コントロールを設け、各種コントロールの意義、それらの結果がもたらす管理項目について技術的に検討すべきである。また、検査機器の設定条件に対するモニタリング方法及びフィードバック方法を検討し、所定の条件で検査が実施されていることをどのように管理されているか説明するべきである。各コントロール、モニタリング、フィードバックにより得られる情報から、異常データとその管理方法を想定することが望まれる。

⑸その他、性能特性に影響する要因

DNAチップを含む検査機器に対する交差汚染には、別検体の混入・増幅産物の混入の二者があり得るが、それぞれの予防に対してとるべき操作環境・設備・手順について技術的に検討し、また、交差汚染を評価するための試験を実施しその結果を残すことが望ましい。

サンプルに含まれる潜在な干渉物質は、必ずしもサンプル調製よって除去できるとは限らず、またサンプル調製、またはDNAチップでの検出に干渉する場合もある。したがって干渉物質がアッセイの性能に及ぼす影響について特性評価をすることが望ましい。

検査中の各種条件について、その設定根拠、特に型判定に対する安定性について検討すべきである。

2.2.5 必要とするサンプル・検体、その前処理・保存等、試薬について

⑴ 検体・サンプル

DNAを得る検体の種類（例えば血液、口腔粘膜）及びその採取方法、採取量について検討すること。

⑵ サンプルの前処理

検体からDNAを抽出・精製する方法について検討すること。サンプルDNAをなんらかの増幅法で増幅した上で用いる場合には、その増幅法と使用する試薬について検討すること。増幅したDNAをさらに後処理（例えば一本鎖化や断片化）した上で、後段の反応に使用する場合には、その後処理法と使用する試薬について検討すること。

⑶ サンプルの保存法

検体、精製DNA、増幅DNA、後処理後DNA、といったすべての段階のサンプルについて、保管法及び輸送法を検討すること。すなわち、保管・輸送に適した温度と性能を維持できる期間について検討する必要がある。

⑷試薬

DNAの抽出・検査など各工程で使用される試薬について、その種類･濃度などにに関して検討することが望ましい。試薬をDNAチップと共に提供する場合、再現性、精度等に対する試薬の影響について、プロセスの各段階で検証した結果を残すことが望ましい。試薬をDNAチップと共に提供しない場合には、DNAチップ使用者が適切な試薬を選択できるよう、必要な試薬の仕様及び検査用DNAの質を評価するための方法・仕様を技術的に検討する。

⑸試薬の保存性・安全性

各工程の反応に使用される試薬の保管法・輸送法についても検討する必要がある。また各工程で使用される試薬の安全性、及び安全な取り扱いに必要な注意事項を検討することが望まれる。

2.2.6 ソフトウェア

⑴　装置を構成するソフトウェアの概要

装置のソフトウェア構成、その機能、関係性について技術的に検討する。その際、ユーザが直接操作する部分、機器を制御する部分、データの解析を行う部分、データの管理を行う部分等について、分けて記述すると分かりやすい。また、更には、ユーザが操作ミスをした場合の動作、機器に異常が発生した場合の動作、停電発生時・停電復帰時の動作等、正規の操作・動作以外の状況発生時の対応についても検討すべきである。

⑵　ゲノム型判定アルゴリズムの原理と概要

ゲノム型判定アルゴリズムについて検討すること。その際、ゲノム型判定を行うに当たって設定しているDNAプローブの種類、各プローブに割り当てているデータ数、型判定に用いる測定データの定義、各プローブの測定データから型判定を行うアルゴリズム、判定に必要な基準値の定義とその設定における統計学的根拠、最終的な判定結果とその信頼度を検討することが望ましい。

2.2.7 データ処理

本装置を用いて取得したデータは、トレーサビリティの観点から、検査日時、検体 ID、DNA チップ及び試薬ロット、検査プロトコール、測定装置の対応が付けられるよう、データ管理されていることが好ましい。

2.2.8 品質管理

⑴DNA チップ

保存方法、保存期間、安定性など、DNA チップの品質に関わる基本情報、チップに固定する DNA プローブの品質管理について検討すべきである。また、DNA チップの品質管理に関連し、GMP/QMS（ISO13485）などの製造管理/品質管理体制に関しても検討ことが望ましい。

⑵検査装置

装置の校正方法、校正（検査）頻度、校正に用いる標準物質、合格規格、交換部品など、検査装置の品質に関わる基本情報、検査装置の品質管理に関連した GMP/QMS（ISO13485）などの製造管理/品質管理体制に関して、検討することが望ましい。

2.3 評価法

2.3.1 評価項目

当該 DNA チップの評価法としては、以下の項目を含むべきであると考える。

①塩基配列決定法との比較

②データ解析、解析ソフトについて

③有意性の検定

④比較試験・臨床評価試験

⑤臨床的実効性

⑥データの管理について

⑦安全性について

2.3.2 塩基配列決定法との比較

・比較に用いた手法とその試験結果について検討することが望ましい。

塩基配列決定法との比較については、原則として目的遺伝子を PCR 法により増幅し、PCR 増幅産物から直接サイクルシークエンス法により塩基配列を決定する方法（ダイレクトシークエンス）により行う。

その他の方法として TaqMan 法(ABI)、Invader 法（Third Wave）、SnaPshot 法（ABI）、MassARRAY 法（Sequenom）、Pyrosequncing 法（Biotage）等を用いることができる。

・両者の一致率を遺伝子型毎に検討することが望ましい。

・比較に用いた試料に関して、以下の記録を残すことが望ましい。

試料の種類、試料の調整あるいは起源、試料数、試料の目的（特異性など）

2.3.3 データ解析、解析ソフトについて

・データの解析法、解析評価に用いたソフトウェア、及び統計分析に関して検討することが望ましい。
データ処理、解析ソフトについては、詳細を記したソフトウェア説明書を作成する。

・失敗事例（遺伝子型の判定不能、器具の故障、試薬の不具合などによるもの）に関しても分析することが望ましい。

・一致率の基準としては、他の診断薬での正答率を一応の目安とする。

2.3.4 有意性の検定

・分析内及び分析間の再現性を特徴付けられるような試験を設計し、その結果を検討することが望ましい。
その際に、以下の点に留意することが望ましい。

−実用での濃度に近い、複数のDNA濃度における適切な試料（注１）を使用すること。

（注１：アレル頻度が非常に小さく、対照試料として必要な量の確保が困難な場合は、「2.3.5 比較試験・臨床評価試験」と同様に、合成試料を用いた検定試験を行っても良い。）

−検査現場で実際に用いられる試料（全血、口腔内採取等）から処理すること。

−複数の操作者いる、3箇所以上の現場を含むこと。

−その他、一般的な臨床生化学検査での再現性試験に準じること。

−測定サンプル組成及びDNA濃度に近い陽性対照及び陰性対照を用いて調べること。

2.3.5 比較試験・臨床評価試験

本項目については平成18年度「DNAチップを用いた遺伝子型判定装置に関する評価指標」を参照のこと（参考文献７）。

2.3.6 臨床的実効性

本項目については平成18年度「DNAチップを用いた遺伝子型判定装置に関する評価指標」を参照のこと（参考文献７）。

2.3.7 データの管理について

・測定の生データは、基本的にはイメージファイルで保存する。また、データベースとしては、リレーショナルデータベースを導入する。なお、信号の検出・分析、データ保存については、プライバシーとセキュリティを十分に確保する。

2.3.8 安全性について

・遺伝子型の同定に失敗した場合、あるいは遺伝子型同定結果の解釈に失敗した場合のリスクを評価し、その際に用いたリスク分析手法についても検討すべきである。

・この種の検査によってもたらされる情報は、医師による日常的な監視と併せて、診療上の意思決定を補完する目的においてのみ利用されるべきである。

・検体からの感染などの危険性に対する対策を講じる。

・検体からのコンタミネーションを回避するための対策を講じる。

2.3.9 その他

・本機器は使用目的が限定されている一方、臨床試験等での早期の利用が要望されていることなどを鑑み、承認審査にあたっては、薬剤におけるオーファン・ドラッグの取扱いのように、優先的な取扱いが望まれる。

2.4 標準物質

2.4.1 目的

遺伝子型決定用ＤＮＡアレイ開発の各フェーズに応じて外部参照物質に求められる要件を示し、該開発品を用いたＳＮＰ解析データの信頼性を向上させることを目的とする。

2.4.2 外部参照物質に求められる要件

ＤＮＡアレイ開発に用いられる外部参照物質には、特性の異なる様々なアレイ技術の精密性評価・正確性評価・結果表示のためのアルゴリズム検討や（一次標準品）、該開発品製造時のトレーサビリティの確認やルーチン検査における精度管理（二次標準物質）にも適用可能な性能が求められる。従って外部参照物質の選定に当たっては以下の方法論的課題を考慮すべきである。

2.4.2.1 外部参照物質の選定

⑴ 一次標準品の選定

該開発品が検出対象とするＳＮＰの両アレルのホモ型・ヘテロ型を網羅するサンプルによる評価が求められるため、一次標準品には対象ＳＮＰを含む複数のヒトゲノムサンプルを使用することを推奨する。但し、出現頻度が稀なアレルのホモ型については必ずしも準備しなくてもよい。

⑵ 次標準物質の選定

解析対象のＳＮＰを検出できることが一次標準品を用いた開発の過程で確かめられている該開発品を市販のために製造する場合、トレーサビリティを確認するために二次標準物質を使用する。二次標準物質には対象遺伝子のうち、ヒト染色体遺伝子よりも安定性に優れ、増産が可能であるプラスミドＤＮＡや増幅産物が適用され、該開発品の性能評価が可能な部分の遺伝子配列が含まれていれば良い。全配列長などの仕様は被評価対象開発品の特性に合わせて開発者により決定されて差し支えないが、統一された測定条件（細胞溶解用緩衝液、プロテアーゼ、制限酵素など、抽出試薬に関する品質管理方法及びDNA の標準処理手順マニュアル）が設定されるべきである。

2.4.2.2 外部参照物質の管理

⑴ 品質管理

一次標準品は選定時にＤＮＡシークエンシングなどの方法により配列を確認する。一次標準品を細胞培養などにより複製する場合は、複製ロット毎に遺伝子配列の確認を行うことにより相同性を担保する。二次標準物質は大腸菌や遺伝子増幅法による複製を経て使用されるが、複製を行う場合には適切な頻度で遺伝子配列が確認されなければならない。

⑵ 純度

ＤＮＡの合成については、ホスホロアミダイト法などの一般的な方法を行い、目的とした遺伝子配列が合成されていることを質量分析(TOF-MS)やHPLC、電気泳動法により確認する。

⑶ 濃度単位

外部参照物質を感度試験に用いる場合には、核酸定量法により求められた既知濃度（理論値）の標準物質を用いて希釈検体を作製し、検出感度の検定を行う。尚、核酸定量は吸光度法（OD260） により実施する。

2.4.2.3 外部参照物質の入手

CDCのGenetic Testing Reference Material Coordination Programにおいてreference materialとして確立された細胞株を、国内公的機関、例えば産業総合研究所がCoriell医学研究所を通じて入手し、保存及び管理を行い、該開発品の機能評価を受託業務として実施する。尚、ヒトゲノムサンプルの保存中又は培養による後天的変異を監視するための定期的な検査も管理業務に含めるものとする。

（参考； Genetic Testing Reference Material Coordination Program (GeT-RM)は、遺伝子検査におけるQC、研究、検定試験や測定データの検証に適した参照物質を研究者が利用できるよう、CDC主導の基に設立された綱領である。(文献5)）

2.5 参考文献

１） Guidance for Industry and FDA Staff, Class II Special Controls Guidance Document: Drug Metabolizing Enzyme Genotyping System. U.S. Food and Drug Administration.

２） 血液製剤のウイルスに対する安全性確保を目的とした核酸増幅検査（NAT）の実施に関するガイドラインについて：平成16年8月3日 薬食発第0803002.

３） The First Genetic Testing Quality Control Materials Program (GTQC) Expert Panel Meeting, November 29, 2005, Turnhout, Belgium.

４） PCRプライマーの合成と精製：1997年6月15日 共立出版.

５） Genetic Testing Quality Control Materials Program-Development of verified QC materials for genetic testing, April 5, 2005.

６） The Condensed Protocols, 467.

７）平成１８年度テーラーメイド医療用診断機器審査ワーキンググループ検討報告書「DNAチップを用いた遺伝子型判定装置に関する評価指標」

３．企業の研究開発動向とDNAチップ標準化に関する調査結果

基礎研究用ではなく、診断、もしくは治療薬の研究開発に関するDNAチップ/装置開発、及びDNAチップを用いた診断薬などのコンテンツを開発している国内メーカー、試薬などのDNAチップの周辺技術開発を行っている企業に対して、診断用DNAチップの市場性や認識している課題について、聞き取り調査を行った。その結果、診断に向けてDNAチップを産業応用するにあたって、特に運用における標準化の必要性があげられた。なお、本調査は、株式会社メディビックに委託し、得られた調査結果をまとめたものである。

3.1 国内DNAチップメーカーに関する調査

3.1.1 目的

診断に向けたDNAチップ開発、及び周辺技術開発を行っている国内メーカーに聞き取り調査を行い、市場動向、特許動向、開発の問題点、標準化が必要な技術内容などについて課題を把握する。

3.1.2 聞き取り調査実施期間

2006年11月〜2007年2月

3.1.3 聞き取り調査対象企業

DNAチップ/装置開発メーカー

株式会社東芝、東レ株式会社、横河電機株式会社

DNAチップを用いたコンテンツ開発メーカー

倉敷紡績株式会社（クラボウ）、株式会社エスアールエル、シスメックス株式会社

DNAチップ周辺技術開発メーカー

栄研化学株式会社

3.1.4 各企業が開発している技術、状況

3.1.4.1 DNAチップ/装置開発メーカー

① 株式会社東芝

ハイブリダイゼーションから判定までを1台の装置で行う「ジェネライザー」、及び電流検出型DNAチップ「ジェネライザチップ」の開発を進めており、反応から検出・解析までを６０分以内（標準処理時間）で実現する。

東芝方式と従来方式の処理フローに関する資料

(http://www.toshiba.co.jp/rdc/dnachip/spec/spec.htm)

遺伝子検査装置「ジェネライザー」

「ジェネライザチップ」にサンプルを注入して装置にセットすると、試薬の注入や反応も全て装置内で自動的に行い、約60分の短時間にて結果を判定する。

(http://www.toshiba.co.jp/rdc/dnachip/spec/gene/gene.htm)

東芝方式(電流検出型)DNAチップ「ジェネライザチップ」
電流検知にてハイブリダイゼーションしたことを確認する手法であるため、高価で不安定な蛍光色素ラベリングが不要であり、明確な結果を得られる。
(http://www.toshiba.co.jp/rdc/dnachip/spec/chip/chip.htm)

② 東レ株式会社
　プラスティック微細加工技術を中心とした3D-Gene基板技術によって、従来のガラス基板に比べて100倍の高感度化を実現したDNAチップ開発、製品化を進めている。
　高感度を実現する3D-Gene基板の3つの要素技術
1)　“3D-Gene”基板は、黒い樹脂で作られている。従来チップのフラットなガラス基板と異なり柱状構造を配列させることにより、スポットの形状を規定し、安定させている。
　このような立体構造を黒色樹脂で形成することにより、スポット形状の安定化のみならず、バックグランドノイズレベルを大幅に低減することも可能となった。蛍光検出時にスキャナー読み取り面を柱の上端に合わせることにより、背景は空気のみの空間を作りだし、ノイズレベルをスキャナーの検出限界レベルに下げることが可能。
2) 柱状構造の上端面にプローブDNAを固定しているが、従来型のガラス基板よりも高密度にDNAを固定化できる表面修飾法を取り入れている。
3) さらに柱状構造を利用して、柱間にビーズを転がすことにより、溶液中のターゲットとプローブDNAの反応促進を行い、感度を向上させた。
(http://www.3d-gene.com/point/basis.html)

③ 横河電機株式会社
　計測機器の技術を活かした全自動集積型カートリッジ、及び読み取り装置の開発を進めている。
1) 全自動集積型カートリッジによる遺伝子診断システムと末梢血疾病コンテンツの実用化
　末梢血からmRNAを抽出し、増幅及び蛍光ラベル化、DNAマイクロイアレイによる解析に至るまでの全工程を全自動で行い、かつ、サンプルを容器外へ排出しない全自動集積型カートリッジ及び高感度読取装置による臨床用遺伝子診断システムの開発を行う。個別化医療実現は臨床現場で実用に耐えうる遺伝子診断機器の実現及び治療につながる疾病コンテンツの存在が大前提であるといっても過言ではない。その実現には機器の信頼性、安全性、簡便性、廉価そして迅速性が必達課題であり、治療に繋がり確度が高い疾病コンテンツが必要である。
　本事業では、医工連携により末梢血疾病コンテンツの実用化診断法を開発機器により検証し、現在臨床現場で強く求められている個人間の体質及び症状の違いによる薬剤選択の実現を目指し、個別化医療の実現に貢献する。
「個別化医療の実現のための技術融合バイオ診断技術開発バイオ診断ツール実用化開発」
(http://www.nedo.go.jp/kankobutsu/pamphlets/bio/project0609/05-06.pdf)

3.1.4.2 DNA チップを用いたコンテンツ開発メーカー

① 倉敷紡績株式会社(クラボウ)

同時に多検体を測定でき、測定スループットを向上する多検体アレイの開発を行っている。多検体アレイは 2 つのコンテンツが開発されており、一つは、ヒト、ラット、マウスでの薬物動態遺伝子の遺伝子発現プロファイリングを行い、化合物の薬物代謝酵素阻害の効果を遺伝子発現レベルで検証するものである。またヒトパピローマウィルスの感染有無、ウィルスの型判定、感染による発癌リスク予測を行う臨床診断用の多検体 DNA アレイの開発を株式会社ジェネティックラボと共同で行っている。

(http://www.kurabo.co.jp/nbd/array/index.html)

薬物動態遺伝子発現評価用多検体アレイの基本仕様

(http://www.kurabo.co.jp/nbd/array/specification.html)

ヒト用アレイ搭載遺伝子(109 遺伝子)

(http://www.kurabo.co.jp/nbd/array/human.html)

ラット用アレイ搭載遺伝子(114 遺伝子)

(http://www.kurabo.co.jp/nbd/array/rat.html)

マウス用アレイ搭載遺伝子(132 遺伝子)

(http://www.kurabo.co.jp/nbd/array/mouse.html)

② 株式会社エスアールエル

小児癌の抗癌剤における治療効果を DNA チップにて 9 割の精度で予測する診断技術を開発したことが、日経新聞にて報じられた。小児癌の神経芽細胞腫は、患者の 3 割は抗癌剤が効きにくいが、癌組織に含まれる遺伝子の働き具合を DNA チップで調べ、抗癌剤が効きやすいタイプかどうか、約 9 割の確率で判定する。

(http://news.genki-book.jp/3diseases/prp-29-002210.php)

③ シスメックス株式会社

アフィメトリクス社が開発する診断用 DNA チップ及び装置・試薬の臨床開発を行い、販売することを 2006 年 12 月 14 日プレスリリースした。

「ＤＮＡチップメーカーの米国アフィメトリクス社と共同研究開発及び臨床開発・販売に関する契約を締結」

〜健康寿命の延長やＱＯＬ向上に貢献する新たな診断技術の創出に向けて研究開発を加速〜

(http://www.sysmex.co.jp/news/press/2006/061214.html)

3.1.4.3 DNA チップ周辺技術開発メーカー

① 栄研化学株式会社

安価、迅速、簡易、精確な遺伝子増幅法である LAMP 法を開発し、複数企業に提供している。

(LAMP 法の説明)

標的遺伝子の 6 つの領域に対して 4 種類のプライマーを設定し、鎖置換反応を利用して一定温度で反応させることを特徴とする。サンプルとなる遺伝子、プライマー、鎖置換型 DNA 合成酵素、基質等を混合し、一定温度（65℃付近）で保温することによって反応が進み、検出までの工程を１ステップで行う。増幅効率が高いことから DNA を 15 分〜1 時間で 10^{9}〜10^{10} 倍に増幅することができ、また、極めて高い特異性から増幅産物の有無で目的とする標的遺伝子配列の有無を判定することができる。
（http://loopamp.eiken.co.jp/lamp/index.html）

3.1.5 調査内容

3.1.5.1 市場動向

・処理に高度な統計ロジックを用いたりするようなブラックボックス的な DNA チップは、診断には向かないと考えている。
・研究では疾患組織などに対する DNA チップ解析でバイオマーカ候補分子を探索し、臨床では血液中のタンパク質を抗体で測定する方法が主流になるのではないか。
・DNA はともかく、RNA は不安定であり、診断する対象としてタンパク質の安定性には適わない。
・診断のために疾患組織を採取できるケースは限られており、血液や尿などで診断できる必要がある。
・診断で検出すべき遺伝子数は、それほど多くならないのではないか。DNA チップは研究用として、治療薬の臨床試験の申請に用いられるような基準作りを行い、薬物動態試験や毒性試験などの前臨床試験での利用を目指すべきなのではないか。

3.1.5.2 特許動向

・大学や医療機関などでも疾患患者サンプルを解析し、バイオマーカ候補となるような遺伝子を探索し、特許申請することが多くなってきており、遺伝子に関する特許を調査することに多大な労力を要するようになってきている。
・遺伝子の利用希望企業には特許調査、及び特許のライセンスを行うような遺伝子特許に関する集約的な管理団体を組織して欲しい。
・スポットタイプの DNA チップを製造、販売する場合は、英国 Oxford Gene Technology 社に、オリゴアレイの基本特許に対するロイヤリティを支払う必要があるが、かなり良心的なライセンス契約となっており、それほどコスト要因とはなっていない。特許はライセンスすることで問題はない。

3.1.5.3 開発の問題点

・FDA のガイドラインでは、DNA チップに搭載される一つ一つの遺伝子について臨床試験を行い、申請、承認される必要があるため、非常にコストが掛かる。一つの遺伝子について承認されたら、他の遺伝子については、差分だけの審査ですむような工夫がほしい。
・これまでの DNA チップは定性的であったが、診断用は定量性があるものになると考えている。測定強度の定量性があればいいが、まずは閾値などを固定値で定められるような技術開発を行っている。

・主に利用されている Cy3, Cy5 の蛍光色素試薬は、数が流通しない前提の研究用価格設定がなされており、数が多くなると予想される診断用に安価な価格設定となっておらず、コストダウンできない最も大きな要因である。蛍光色素試薬だけで、1試験あたり数千円以上のコストになっている。
・蛍光色素が高価であることは問題視しているが、測定精度とのトレードオフもあるので慎重に見極めている。
・国内は基準が不明確で面倒も多いため、まずは FDA にて申請承認を行い、それから国内で臨床試験を行うことも考えられる。
・FDA のガイドラインでは、マイナーアレルについては合成遺伝子で代用測定してよいこととされているが、実際に極めてマイナーなアレルの場合、該当するサンプルが十分な数だけ得られるまで臨床試験を行うとしたら、コストが掛かり過ぎる。

3.1.5.4 標準化が必要な技術など
・多くの DNA チップ製品が合成物質で測定して精度を求めているが、臨床に即して血液などの患者サンプルを用いて精度、再現性を出していくように基準化していく必要があるのではないか。
・RNA を測定する場合、解析精度などデバイスの問題よりも、むしろサンプリングや RNA の安定化、サンプル輸送などの運用面での問題のほうが大きい。サンプリングから解析までのプロトコール標準化が必須である。
・遺伝子抽出においては、人為ミスを減らすため抽出機器の導入を検討したほうが良い。
・産業化イコール標準化との認識があり、標準化は是非必要となるが、様々な標準化団体が走っており、どこに付けば良いか分からない。
・複数の遺伝子（マルチマーカ）を DNA チップに搭載し、それらの予測式から判定することを目指しているが、マルチマーカで判定を行うための標準作りが必要となる。
・遺伝子増幅のような個別技術の標準化を行うとすると、有利、不利な企業が出てくる。個別技術の標準化は行わずに、アウトプットの基準、もしくは運用プロトコールを標準化するような議論、取り組みが必要となる。
・特定の技術や製品に限定されるような標準化は行うべきではない。

3.2　蛍光色素の開発動向調査
3.2.1 目的
　特定色素が市場独占している DNA チップ用の蛍光色素の動向調査をする。

3.2.2 DNA チップにて従来利用されている蛍光色素
　2 色法 DNA チップの測定には、通常、Cy3（緑）、Cy5（赤）の蛍光色素が用いられている。現在、Cy3、Cy5 の蛍光色素ラベリング試薬は、各社から 1 サンプルにつき Cy3、Cy5 それぞれ 7000 円〜8000 円程度で販売されている。

3.2.3 DNA チップにて利用可能な新規蛍光色素
①アイエスティー社製蛍光色素

Cy3、Cy5 に代わる蛍光色素試薬の一つとして、アイエスティー社が開発している蛍光色素がある。従来にDNA チップで用いられてきた蛍光色素は、湿潤状態を保ちながら観測しないと蛍光色素が消光するため、乾燥させた状態で測定することができなかった。しかし湿潤状態では定量値に誤差が出やすいとされており、DNA チップの定量性への影響があるとされていた。アイエスティー社が開発する蛍光色素は、固体状態でも蛍光を示し、高い安定性を有していることが特長である。

(http://www.ist.or.jp/presen/detail.php?id=001205&PHPSESSID=27992d8db50)

②Alexa Fluor 色素 (Molecular Probe 社)

Cy3、Cy5 に代わる蛍光色素として Alexa Fluor 色素が期待されているが、Cy3、Cy5 と同等の価格で販売されている。Alexa Fluor 色素は、近紫外線領域から可視、近赤外線領域のスペクトルにわたってすぐれた蛍光を発し、様々な用途で利用されている。

明るさ:Alexa Fluor コンジュゲートは同様なスペクトルの他のコンジュゲートより強力な蛍光を示する。

光安定性:Alexa Fluor コンジュゲートは他の蛍光コンジュゲートより光安定性が高いので、より長い時間、画像をキャプチャーできる。

機器の互換性:Alexa Fluor コンジュゲートの吸収スペクトルは一般的な励起光源の主要出力波長に適合している。

色の選択性:Alexa Fluor 色素コンジュゲートは青から遠赤外まで、いくつもの蛍光色が利用できる。

水溶性:Alexa Fluor 反応性色素は水に対する溶解度が高く、したがって有機溶媒を用いることなくコンジュゲートでき、保存中でも沈殿が生じにくくなっている。

pH 不感性:Alexa Fluor 色素は広範な pH にわたって高い蛍光を示す。

(http://www.invitrogen.co.jp/catalogue/molecular_probes/alexa/alexa_index.html)

DNA チップでの利用

サンプルを Alexa Fluor 546 色素で標識した場合、Cy3 色素で標識するよりも 3 倍も高い蛍光強度が得られている。Alexa Fluor シリーズの色素の方が Cy 色素に比べ、特に高いレベルでラベリングができ、消光によるアーティファクトがはるかに少ないことも認められた。 さらに、Alexa Fluor 色素を用いた dye-swap (色素交換) 実験では、同様なスペクトルの Cy 色素を用いた場合よりもシグナルに相関性が高いことが認められた。

Alexa Fluor 対 Cy 色素で標識した DNA。17 染色体α-サテライト DNA を、アミノアリル修飾 dUTP (A-21664) と dTTP の比率を様々に変えた中でニックトランスレーションによりアミン修飾した。 修飾 DNA をプールしたものを等しい分量に小分けし、Alexa Fluor 555 または Alexa Fluor 647 のサクシニミジルエステル (A-21677、A-21676) 、あるいは Cy3 または Cy5 反応性色素のいずれかで標識した。 標識レベルを反応ごとに算出した。すなわち、プローブごとに中期のヒト染色体とハイブリダイゼーションし、各シグナルの明るさを測定した。色素別にシグナルの明るさをラベリングのレベルに対してプロットした。ラベリングのレベルが高いほど、Alexa Fluor 色素で標識したサンプルではより明るさが増したのに対して、Cy 色素の場合にはラベリングレベルの上昇とともにサンプルの消光が認められる。

DNA チップのハイブリダイゼーションシグナルの相関

ヒトの 110 遺伝子を 4 回反復してプリントした DNA チップを、ARES DNA 標識キットを用いてヒト Total RNA から合成した標識 cDNA とハイブリダイゼーションした。 次にアミン修飾した cDNA を等しい分量に小分けしてサクシニミジルエステルで標識した。 各色素とも平均 20 塩基に 1 色素の割合でラベルされていた。 これら一対の色素のハイブリダイゼーションシグナルを、一方に対する平均シグナル強度の比率 (%) としてプロットした。 3 回の独立した実験で、Alexa Fluor 555/Alexa Fluor 647 の色素ペアの方が (R^2 =0.9956, 0.9915, 0.9906)、Cy3/Cy5 色素ペアより (R^2 =0.9380, 0.9654, 0.9566)、シグナルがより高度に一致していることが認められた。
(http://www.invitrogen.co.jp/catalogue/molecular_probes/microarray/content02/index.html)

3.3 疾患関連遺伝子に関する調査

3.3.1 目的

DNA チップにて評価できる疾患に関して、遺伝子数や遺伝子の内容などに関して調査する。米国 FDA から認められている Genomics Biomarker は全て、DNA チップにて評価できる疾患、もしくは生体現象であるため、調査対象とした。実用化されている疾患や生体現象の評価目的の遺伝子診断技術についても調査した。

3.3.2 米国 FDA が認めている Genomics Biomarker のリスト

現在、FDA が Valid*と認め、ホームページにて公開している Genomic Biomarker**は 18 種類ある（“Table of Valid Genomic Biomarkers in the Context of Approved Drug Labels” http://www.fda.gov/cder/genomics/genomic_biomarkers_table.htm）。Genomic Biomarker の役割として、レスポンダー/ノンレスポンダーの層別化、副作用回避、そして至適投薬量による有効性と安全性を引き出すことである。FDA が公表している一覧表には、Genomic Biomarker として認められているバイオマーカー名、実際の添付文書に記載されている対象薬の情報、投薬前における検査の必要性、同じバイオマーカーと関連性が認められているその他の薬剤、そして関連論文へリンクがされている。なお、ここで紹介されている Genomic Biomarker のほとんどは、一部を除いて、投薬前の遺伝子検査といった具体的な対処を要するものではない。なお、投薬前の遺伝子検査の必要性は次のように示されている。1＝要検査、2＝検査推奨、3＝情報提供のみ。
(注)
*Valid Biomarker 定義（“Guidance for Industry: Pharmacogenomic Data Submissions”）
“A biomarker that is measured in an analytical test system with well-established performance characteristics and for which there is an established scientific framework or body of evidence that elucidates the physiologic, toxicologic, pharmacologic, or clinical significance of the test results. The classification of biomarkers is context specific.”

**Genomic Biomarker の定義 (ICH Current Step 2 version dated 25 Oct. 2006)
“A genomic biomarker is defined as: A measurable DNA or RNA characteristic that is an indicator of normal biologic processes, pathogenic processes, and/or response to therapeutic or other intervention.”

① C-KIT expression

【添付文書記載例】　消化器官間質腫瘍c-Kit発現
“In vitroにてメシル酸イマチニブは、活性化c-kit変異を示す消化管間質腫瘍（GIST）細胞のアポトーシスを誘発させ、細胞増殖を抑制する働きを持つ。同剤は、切除不能KIT（CD117）陽性消化管間質腫瘍または転移性悪性GIST患者の治療に適応。”
【投薬前検査の必要性】　３
【薬剤】　　　Imatinib mesylate
（商品名：グリベック、慢性骨髄性白血病とKIT（CD117）陽性消化管間質腫瘍）
【同バイオマーカーと関連するその他の薬剤例】　記載なし
【参照PubMed ID】 12851888　16226710　16294026

② CYP2C19 Variants
【添付文書記載例】　遺伝子欠損を有するCYP2C19多型、Poor Metabolizers（PM）とExtensive Metabolizers（EM））は服薬の際に変化をもたらす
“In vivo研究において、CYP2C19はボリコナゾールの薬物代謝と強い関連性があり、この酵素は遺伝的多型をもつことが示されている。例として、アジア系人種の15～20%はPMと予測されている。白人と黒人ではPMは3～5%と予測されている。白人と日本人の健常者で比較した研究では、PMは対照となる同型接合のEMよりも、ボリコナゾールへの暴露（AUCτ）が平均4倍高かったことが報告されている。異型接合EMは対照となる同型接合のEMよりも、ボリコナゾールへの暴露が平均2倍以上であったという。”
【投薬前検査の必要性】 ３
【薬剤】　　　Voriconazole（商品名：ブイフェンド、深在性真菌治療薬）
【同バイオマーカーと関連するその他の薬剤例】
Omeprazole[m1]　Pantoprazole [m2] Esomeprazole[m3]　diazepam[m4]　Nelfinavir[m5]　Rabeprazole[m6]
【参照PubMed ID】 12867215 11866669

③ CYP2C9 Variants
【添付文書記載例】 CYP2C9のPMとEMの遺伝子型と服薬
“既往歴をもとにP450 2C9のPMである患者もしくはPMと予測される患者にセレコキシブを投与する際は、低代謝による高血漿濃度を生じる可能性があるため注意を要する”
【投薬前検査の必要性】 ３
【薬剤】 Celecoxib（商品名：セレブレックス、COX-2阻害剤）
【同バイオマーカーと関連するその他の薬剤例】 Warfarin[m7]
【参照PubMed ID】 16118328　15637526　15714076　15037866　14558433

④ CYP2D6 Variants
【添付文書記載例】　CYP2D6多型
“アトモキセチンは主にCYP2D6の酵素経路で代謝される。この酵素経路の活性が低下している患者（PMs）は、正常活性の患者（EMs）と比較すると、アトモキセチンによる高血漿濃度が認められる。”

【投薬前検査の必要性】 3
【薬剤】 Atomoxetine（商品名：ストラテラ、注意欠陥／多動性障害）
【同バイオマーカーと関連するその他の薬剤例】
Venlafaxine;[m8] Risperidone;[m9] Tiotropium bromide inhalation;[m10] Tamoxifen;[m11] Timolol Maleate;[m12]
【参照 PubMed ID】 記載なし

⑤ CYP2D6 with alternate Context
【添付文書記載例】 CYP2D6 の PM と EM 多型、服用とリスク
"遺伝子欠損を有するサブグループは CYP2D6 の活性低下につながる。Fluoxetine など P450 2D6 で代謝される薬剤は、このアイソザイム活性を抑制することで正常な代謝活性を有する患者が「PM」とみなされてしまうことがある。5 週以内もしくは同時に fluoxetine を服用している患者へ、主に CYP2D6 系で代謝され、かつ比較的狭い治療指数をもつ治療薬を処方する場合は、少用量で始めるべきである。"
【投薬前検査の必要性】 3
【薬剤】 Fluoxetine HCL（商品名：プロザック、抗うつ薬）
【同バイオマーカーと関連するその他の薬剤例】
Fluoxetine HCL and Olanzapine;[m13] Cevimeline hydrochloride[m14] Tolterodine;[m15] Terbinafine;[m16] Tramadol + Acetamophen [m17] Clozapine[m18] Aripiprazole;[m19] Metoprolol;[m20] Propranolol;[m21] Carvedilol[m22] Propafenone[m23] Thioridazine;[m24] Protriptyline HCl;[m25]
【参照 PubMed ID】 16472103 16384813; 15063083; 16271013 16236141 15828850 15492763 15037866 14639062 10431214 1302039

⑥ DPD Deficiency
【添付文書記載例】 ジヒドロピリミジン デヒドロゲナーゼ（DPD）欠乏
"ジヒドロピリミジン デヒドロゲナーゼ（DPD）活性欠乏によって、5-フルオロウラシルによる予想外の重症毒性（口内炎、下痢、好中球減少、神経毒性）が稀に認められる。よって、5-フルオロウラシルによる致死的毒性の可能性と DPD 値低下との関連性を除外することはできない。"
【投薬前検査の必要性】 3
【薬剤】 Capecitabine（商品名：ゼローダ、経口 5-フルオロウラシル系抗がん剤）
【同バイオマーカーと関連するその他の薬剤例】
Fluorouracil Cream; [m26] Fluorouracil Topical Solution & Cream[m27
【参照 PubMed ID】16428499 16163233 15377401 15093568 15083629

⑦ EGFR expression
【添付文書記載例】 上皮増殖因子受容体（EGFR）発現の有無
"EGFR 発現は EGFR pharmaDxTM キットを用いて確定される。pharm Dx キットの取り扱い説明書で 1%カットオフが指定されているのと対照に、陽性の EGFR 発現状態は細胞染色の最低 10%が EGFR であることと定義されている。同キットは膵臓癌の適応となっていないが、EGFR 陽性腫瘍群（ハザード比＝0.68）と喫煙の既往歴が

ない患者群（ハザード比＝0.42）の 2 群で有効性が認められている。非小細胞肺癌（NSCLC）試験の患者 326 例（45%）にのみ EGFR 状態が認められているため、臨床アウトカムとして EGFR 発現状態が治療効果に与える影響を解析したものは少ない。”

【投薬前検査の必要性】 ３

【薬剤】 Erlotinib（商品名：タルセバ、非小細胞肺癌分子治療薬）

【同バイオマーカーと関連するその他の薬剤例】 記載なし

【参照 PubMed ID】 16354309 16011858

⑧ EGFR expression with alternate Context

【添付文書記載例】EGFR 発現の有無

“治療前評価として、頭頸部扁平上皮がん（SCCHN）患者における EGFR 発現検査は義務付けられていない。”

【投薬前検査の必要性】３

【薬剤】Cetuximab （商品名：エルビタックス、転移性大腸癌及び SCCHN の分子標的薬）

【同バイオマーカーと関連するその他の薬剤例】Gefitinib[m28]

【参照 PubMed ID】16354869 16336755 16336752 16117976 16061873 15962524 15863375 15946581 15677699 15217966

⑨ EGFR expression with alternate Context

【添付文書記載例】EGFR 発現の有無

“臨床試験の被験者は、DakoCytomation EGFR pharmDx™検査キットを使って、免疫組織染色で EGFR 陽性発現の確認が求められる。”

【投薬前検査の必要性】 1

【薬剤】Cetuximab （商品名：エルビタックス、転移性大腸癌及び SCCHN の分子標的薬）

【同バイオマーカーと関連するその他の薬剤例】Gefitinib[m28]

【参照 PubMed ID】16354869 16336755 16336752 16117976 16061873 15962524 15863375 15946581 15677699 15217966

⑩ G6PD Deficiency （glucose- phosphate dehydrogenase：G6PD）

【添付文書記載例】 G6PD 異常症とリスク

“G6PD 異常症患者への Rasburicase 投与は、重度の溶血反応を引き起こすことがあり、これが発現した患者には直ちに投与を中止し、恒久的にも投与を禁止する。G6PD 異常症を発症する危険性の高い患者（例：アフリカ系もしくは地中海系家系）は、同剤投与前にスクリーンニングを行うことを推奨する（Contradictions、Warnings、Hemolysis を参照）。”

【投薬前検査の必要性】 3

【薬剤】 Rasburicase（商品名：エリテック、高尿酸血症治療薬）

【同バイオマーカーと関連するその他の薬剤例】 Dapsone[m29]

【参照 PubMed ID】 16204390 11842483

⑪ G6PD Deficiency with alternate Context

【添付文書記載例】 G6PD 異常症と忍容性
“G6PD 異常症患者には中程度から重度の溶血反応が起こりうる。赤血球 G6PD 異常症もしくは nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) methemoglobin reductase deficiency の患者にリン酸プリマキンを投与する場合、忍容性を監視すべきである。”
【投薬前検査の必要性】 3
【薬剤】 Primaquine（一般名：リン酸プリマキン、マラリア治療薬）
【同バイオマーカーと関連するその他の薬剤例】 Chloroquine[m30]
【参照 PubMed ID】 15330059 P15117307 P12643993 9685977

⑫ Her2/neu Over-expression
【添付文書記載例】 薬物治療に適切な患者選択に Her2/neu 過剰発現が必須
“ハーセプチン治療の対象患者を選択するにあたって Her2/neu 過剰発現が必須である（INDICATIONS を参照）。HER2 蛋白過剰発現を予測するアッセイで、腫瘍評価された患者にハーセプチン投与を行うべき (PRECATIONS: HER2 検査と臨床試験：HER2 Testing を参照）。”
【投薬前検査の必要性】 1
【薬剤】 Trastuzumab（商品名：ハーセプチン、転移性乳癌に対する分子標的薬）
【同バイオマーカーと関連するその他の薬剤例】記載なし
【参照 PubMed ID】 16445668 16277882 16137435 15725114 15143970 14990641

⑬ NAT Variants
【添付文書記載例】 N-アセチル転移酵素 (NAT）の slow acetylator/fast acetylator と毒性
“slow acetylation（アセチル化が遅い）ヒトにおいて薬物血中濃度が高くなり、毒性の副作用を発現する可能性が高くなる”
【投薬前検査の必要性】 ３
【薬剤】 Rifampin, isoniazid, and pyrazinamide（商品名：リファテール、結核治療薬）
【同バイオマーカーと関連するその他の薬剤例】
Isosorbide dinitrate and Hydralazine hydrochloride[m31]
【参照 PubMed ID】 12669770 12715953 2224079 12271964 11259359 11677864 15951616

⑭ Philadelphia Chromosome Deficiency
【添付文書記載例】 フィラデルフィア染色体陽性と有効性
“フィラデルフィア染色体 (Ph1）が欠失した慢性骨髄性白血病患者 (CML）におけるブスルファンの有効性は低い。同様に、Ph1 欠失した幼児にて認められる小児 CML 患者にも効果は低く、急性転化期の CML 患者では無効である。”
【投薬前検査の必要性】 ３
【薬剤】 記載なし

【同バイオマーカーと関連するその他の薬剤例】 Busulfan（商品名：マブリン、ブスルフェクス点滴静注用[2006年10月発売]）
【参照PubMed ID】 11919388

⑮ PML/RAR alpha gene expression (Retinoic acid receptor responder and non-responders)
【添付文書記載例】
PML/RARα融合遺伝子の存在：ベサノイドを用いた治療は、急性前骨髄球性白血病（APL）の形態学的診断に基づいて始める。APL の診断確定は、t（15; 17)転座の遺伝子マーカーを検知する細胞遺伝学的研究にて行う。マーカーが陰性の場合、PML/RARαの融合は分子診断技術を使って検討する。その他の AML サブタイプに対する同治療の奏効率は不明であるため、遺伝子マーカーが認められない患者には代替療法を検討する。
【投薬前検査の必要性】 ３
【薬剤】 Tretinoin（商品名：ベサノイド、急性前骨髄球性白血病治療薬）
【同バイオマーカーと関連するその他の薬剤例】 Arsenic Oxide [m32]
【参照PubMed ID】 15735696 11114710

⑯ Protein C Deficiencies (hereditary or acquired)
【添付文書記載例】
先天性または後天性プロテインC欠乏症、もしくはその補因子プロテインS
先天性または後天性プロテイン C 欠乏症、もしくはその補因子プロテイン S は、ワーファリン投与後の組織壊死との関連性が見出されている。“同患者の全てに壊死が発現するわけではなく、非プロテイン C 欠乏症患者でも組織壊死は起こる。活性化プロテイン C に対する先天的抵抗性は、塞栓症の 1 つである静脈血栓症患者で認められているが、細胞壊死の危険因子としてはまだ検討されていない。このような病態に関連する再発性血栓症と副作用といったリスクは、全患者で必ずしも認められるわけではないため、判断が難しい。検査や治療は個別に応じて決めるべきである。”
【投薬前検査の必要性】 2
【薬剤】 Warfarin（一般名：ワーファリンカリウム、経口抗凝固薬）
【同バイオマーカーと関連するその他の薬剤例】 記載なし
【参照PubMed ID】 16444443 10718793 8913415

⑰ TPMT Variants
【添付文書記載例】 チオプリン・メチルトランスフェラーゼ（TPMT）の欠損または低活性
突然変異による TPMT の欠損または活性が低い患者は骨髄毒性を生じるリスクが高い。TPMT 検査は推奨されており、患者の遺伝子型もしくは表現型を考慮して TPMT 投与を検討する。
【投薬前検査の必要性】 2
【薬剤】 Azathioprine（商品名：イムラン／アザニン、免疫抑制薬）
【同バイオマーカーと関連するその他の薬剤例】 Thioguanine[m33] Mercaptopurine [m34]

【参照 PubMed ID】 16409140 16267626 15792824 15571264 15570193 15316356 15226673 14985890 12465143 10628931 7857117

⑱ UGT1A1 Variants

【添付文書記載例】 UGT1A1 変異による薬剤毒性への感受性

"UGT1A*28 allele と同型の患者はカンプトサール治療開始後に好中球減少の発現リスクが増大するため、このような患者には低用量から始めることを推奨する。異型接合体患者においても、好中球減少の発現リスクが高くなる可能性があるが、異なる臨床結果が得られており、通常用量から治療開始しても忍容性を有することが示されている。"

【投薬前検査の必要性】 2

【薬剤】 Irinotecan（商品名：トポテシン／カンプト、抗癌剤）

【同バイオマーカーと関連するその他の薬剤例】 記載なし

【参照 PubMed ID】 15297419 15280927 15007088 15084617

3.3.3 実用化されている主な遺伝子診断キット

実用化されている主な遺伝子診断キットを以下に、ジェノタイピングと遺伝子発現プロファイリングに分けてまとめた（表 3.1 及び表 3.2）。

表 3.1 診断キット(ジェノタイピング)

検査キット名	企業名	目的	技術	価格
AmpliChip CYP450	Roche Diagnostics	薬物代謝の速さをチトクローム P450 遺伝子多型で検査	DNA チップでジェノタイピング	$ 500
BRAC Analysis	Myriad Genetics	癌の家族歴を有する患者の乳がんと卵巣癌を発症するリスクを評価	DNA から BRCA1 と BRCA2 遺伝子変異を解析	$2,975 最も広範なバージョン
Familion	Clinical Data	家族性 QT 延長症候群(5 つの遺伝子をみる KCNQ1,KCNH2, SCN5A,KCNE1, KCNE2)	血清から 5 つの心性イオンチャネル遺伝子をシーケンス	$5,400 最も広範なバージョン
PreGen-Plus	Exact Sciences	薬物検査室 LabCorp が販売、大腸癌検査	採便で次の DNA を解析；3 遺伝子の突然変異、マイクロサテライト不安定性、アポトーシスの兆候	$500

表 3.2 診断キット(遺伝子発現プロファイリング)

検査キット名	企業名	目的	技術	価格
AlloMap	XDx	心臓移植による拒否反応を予測	血清から 20 の遺伝子発現を解析	$2,950
ChemoFx	Precision Therapeutics	各患者の抗癌剤に対する薬物応答性を定量化	培養した腫瘍細胞に薬剤を投与し IHC で評価	$450 各薬剤ごと
MammaPrint	Agendia	術後リンパ節転移陰性の乳癌患者における再発リスクを予測	DNA チップで凍結細胞の 70 の遺伝子発現を解析	>$3,000
Oncotype DX	Genomic Health	ホルモン感受性乳癌リンパ節転移陰性の術後患者における再発リスクを予測	RT-PCR で腫瘍サンプルの 21 の遺伝子発現を解析	$3,460
Phenosense GT	Monogram Biosciences	HIV 患者に最も有効的な HIV 治療薬を特定	主要な HIV 遺伝子を使ってベクターを作成し、薬剤感受性をみる	$1,460

出典：“New-wave diagnostics” Nature Biotechnology Volume 24 Number 8, August 2006

４．技術開発の要点：蛍光色素の評価試験法に関する検討

4.1 aRNA 作成法の検討

一回の実験で数千種類の遺伝子の発現レベルを同時に測定できる DNA チップを用いた発現プロファイリングは、ゲノムワイドスケールでの遺伝子発現の評価のために最も広く行われている方法である。このテクノロジーを用いるにあたり最初に問題になるのが、アレイのハイブリダイゼーションに多量の RNA が必要となることである。これは mRNA の少ない細胞や組織、初代培養細胞、レーザーキャプチャ-マイクロダイセクション（LCM）などのサンプル量に制限がある検体では特に問題になる。そこで、ナノグラム単位の微量な total RNA 抽出サンプルからマイクログラム単位（DNA チップを用いた発現解析に必要な量）のアンチセンス RNA（aRNA）を増幅するため、現在、様々な増幅キットを市販されている（表 4.1）。

表 4.1 市販されている aRNA 増幅キットの比較例

製品名	製造元	必要な total RNA 量	増幅効率	規格
RiboAmp™	Arcturus	10 ng-40 ng	約 1000 倍（1 回増幅） 約 100 万倍(2 回増幅)	10 回分
MessageAMP™ II	Ambion	100 pg-5μg	最大 5,000 倍	20 回分
TureLabeling-PicoAMP™	Supperarray	50 pg-500 pg	数 10 万倍(2 回増幅) （ラベル化反応も同時にできる）	24 回分
Ovation™Aminoallyl RNA Amplification and Labeling System	NuGEN	5 ng-100 ng	5 ng-100 ng の total RNA から 4-10μg のアミドアリル標識 cDNA を得られる	12 回分

多くのキットでは、逆転写による第一鎖 cDNA の合成、第二鎖 cDNA の合成、cDNA の精製、インビトロ転写と aRNA 精製の各過程を経て、RNA を増幅させる過程をとっている。このため逆転写酵素や精製カラムなどの違いによって、増幅効率が影響される。また、超微量な RNA の増幅のために至適化したキットを使用する際に、用いる total RNA 量が多い場合は増幅効率が低下することがあるため、用いる total RNA 量でキットを使い分ける必要がある。

4.2 ラベリング方法の検討

DNA チップ実験における“サンプル RNA の標識（ラベリング）”方法として、直接標識法と間接標識法がある。（“サンプル RNA の標識”とは、サンプル RNA と蛍光色素を用い、逆転写酵素反応によって、蛍光標識された cDNA を合成することである）。従来から行われている直接標識法では、Cy Dye でラベルされたヌクレオチドを逆転写反応によって、直接 cDNA に取り込ませる。しかし、逆転写酵素反応の基質として用いられる Cy Dye-ヌクレオチドは、dNTP よりも分子量が大きいため、逆転写酵素の cDNA 合成効率が低下する。従って、cDNA 合成効率を最大限に利用することが困難である。それに、標識効率が Cy Dye-ヌクレオチド取込み効率に

大きく左右されるため、同じ遺伝子由来のmRNAから合成したcDNA分子でも、それぞれの分子の標識パターンが異なることになる。

これらの問題は間接標識法で解決できる。間接標識法では、先ず cDNA 合成時にアミノアリル-dUTP を取り込ませる。次に、合成cDNAに取り込まれたアミノ官能基とN-ヒドロキシサクシンイミドで活性化されている蛍光色素とを結合反応させることによって、cDNA を蛍光標識する。即ち、この方法で逆転写酵素の反応効率を低下させずに、最終的に均一で発色レベルの高い標識cDNAを作製することができる。

現在、間接標識法を用いる数種のラベリングキットが販売されている。今回の検討では、実際２つのキットを用いて、ラベリングレベルの検討を行った。使用したキットは、CLONTECH 社の Atlas PowerScript Fluorescent Labeling Kit 及び Stratagene 社の Fair III Microarray Labeling Kit である。Cy3、Alexa 555 及び Fluolid Orange 全部３つの蛍光色素において、Clontech社のラベリングキットで良好な標識結果が得られた。

4.3 蛍光色素の比較

表4.2で示したすべての製品は蛍光を示す色素をベースに、生体分子内のアミノ基と反応する活性エステル基を導入したものである。Cy3とCy5は現在広く使われている色素であるが、価格が他に比べてやや高いため、実験のコストが上がる。Alexa系列の蛍光色素はCy dyeよりも蛍光強度が高いと言われるが、Cy dyeと同様に、価格の高さが問題になる。FluolidはIST社により開発された新しい蛍光色素であり、120-140 nmの励起波長と蛍光波長の差を示すので、高感度な測定が可能である。それに、ターゲットに対してほぼ定量的に標識することが可能で、しかも、DNAチップ基盤上で乾燥した状態でも安定した蛍光を得ることが可能である。ただし、多くの蛍光スキャンナーには対応できるフィルターセットがないため、蛍光強度の評価はまだ課題として残る。

表4.2 DNAチップに適用できる蛍光色素の比較例

製品名	製造元	励起／蛍光波長 (nm)	規格
Cy3™ Mono-reactive dye pack	Amersham Biosciences	550/570	20反応分
Cy5™ Mono-reactive dye pack	Amersham Biosciences	649/670	20反応分
Alexa Fluor ™ 555 reactive dye decapack	Invitrogen	555/565	10反応分
Alexa Fluor ™ 647 reactive dye decapack	Invitrogen	650/670	10反応分
DY-550-NHS-Ester	Dyomics	553/578	1 mg
DY-635-NHS-Ester	Dyomics	647/671	1 mg
Fluolid Orange	IST	460/594	1 mg

4.4 蛍光色素に関する実証実験

（1）実験目的

蛍光色素の違いを実験結果で比較することにより、感度や使用上の問題点を明らかにする。

（２）実験方法

方法１：Clontech社あるいはStratagene社の蛍光ラベリングキットを使用して、 間接蛍光標識法によりcDNAを標識した。標識されたcDNAを精製した後、6.5μlのTEバッファに溶解した。その中から0.5μl（Fluolid Orangeの場合5μl）の溶液を取り、2%のアガロースゲルに流した後、FluorImager™595（Molecular Dynamics）で蛍光を検出した（図4.1）。

方法２：上記の方法１の標識法で取られた標識cDNAをマクロアレイに載せて、65℃で一晩ハイブリダイゼーションさせた後、蛍光スキャナー—FLA-8000（FujiFilm）を用いて各スポットの蛍光強度を測定した（図4.2）。

（３）実験結果

今回の検討ではCy3、Alexa 555及びFluolid Orangeを用いて、蛍光色素によるcDNAの標識実験を行った。

図4.1に示したように、Alexa 555で標識したcDNAはCy3標識したものより高い蛍光強度を示した。また、Cy3あるいはAlexa 555で標識したcDNAと比べて、Fluolid Orangeで標識したcDNAの蛍光強度が低いことが観察された。

図4.2に示したように、Cy3で標識したcDNAサンプルをDNAチップ上にハイブリダイゼーションさせた場合は、バックグランドが低く、蛍光強度の高いスポットが観察された。一方、Fluolid Orangeの場合は、Cy3標識したサンプルと比べて、蛍光強度の低いスポットより多く観察され、また、バックグランドが高いことが観察された。

（４）考察

Clontech 社のラベリングキットを用いた場合、いずれの蛍光色素においても、良好な標識結果が得られた。一方、Fluolid Orange で標識した cDNA は蛍光強度が比較的弱いことが判った。原因の１つとしては、励起と検出フィルターが本来の色素の波長に合わないと考えられる。至適な検出フィルターを使うことによって、さらに良い結果を得られることが期待できる。

4.5 ハイブリダイゼーションの自動化の検討

現在市販されている自動ハイブリダイゼーション装置を表 4.3 にまとめた。

自動ハイブリダイゼーション装置を用いて、DNA チップのハイブリダイゼーションを行うには、いくつかのメリットとデメリットがある。以下にまとめる。

（メリット）

・ミキシング機能により、溶液が均一に広がり、低いバックグランドと高い S／N（シグナル／ノイズ）比を得られるため、高感度の検出を実現できる。

・自動的に操作を行うため、スライド間や技術者によるバラツキが大幅に低減できる。

・ターゲット RNA が微量の場合でも高い感度で検出できる。

・ハイブリダイゼーション所用時間の短縮が可能になる。

（デメリット）

・機種によっては消耗品にコストがかかる。

・ミキシングの方法によって、スポットが剥がれたり、ハイブリダイゼーション液が多量に必要したりするため、ハイブリダイゼーションの効率に影響する可能性がある。

・装置が高価である。

表4.3 自動ハイブリダイゼーション装置の比較例

製造元	MAUI	Sunergia Medical	Tecon
ミキシング機能	連続	連続	連続
ミキシング方法	エアブラッターによる強制還流	超音波	ハイブリダイゼーション液還流
ターゲット量	50μl	30-100μl	70-100μl
スライド枚数	4枚	4枚	12枚
ハイブリダイゼーション温度	室温〜65℃	室温〜75℃	4〜85℃
チャンバー	ディスポ	固定	アレイエリアに合わせ選択
特　徴	再現性が高い。低発現領域の発現をしっかりとハイブリダイゼーションできる。消耗品のコストがかかる。	超音波が原因のスポットの剥がれやハイブリダイゼーションのむらが起りやすい。	拡張ユニットによる増設が可能（最大48枚）。洗浄操作までフルオート。ハイブリダイゼーション液の量が必要。
価　格	280万円	390万円	950万円

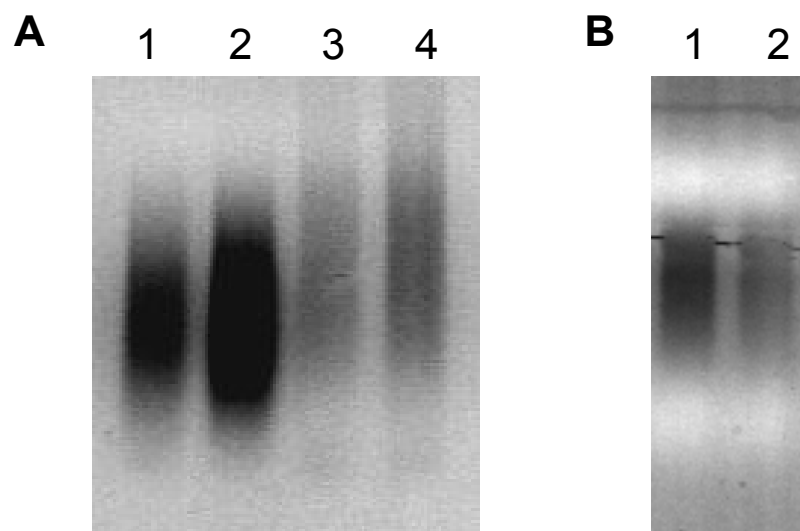



図4.1 各蛍光色素で標識したcDNAの蛍光強度の解析

(A) レーン１、２：Clontech社のキットで得られた結果；レーン３、４： Stratagene社のキットで得られた結果。レーン１、３：Cy3で標識したcDNA；レーン２、４：Alexa 555で標識したcDNA。励起波長514nm、蛍光波長570nm。

(B) Fluolid Orangeで標識したcDNAの結果。レーン１：Clontech社のキットを用いた結果；レーン２：Stratagene社のキットを用いた結果。励起波長488nm、蛍光波長590nm。

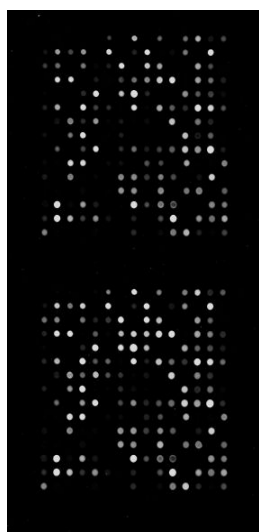
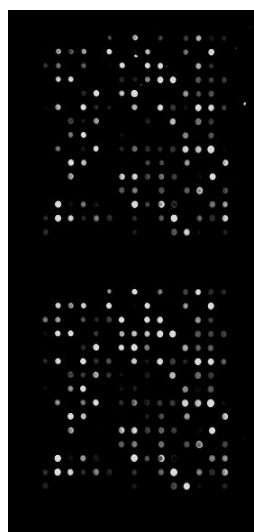



図4.2 蛍光色素で標識したcDNAを用いたDNAチップ解析

(A) Cy3で標識したcDNAを用いた結果。励起波長532nm、蛍光波長570nm。

(B) Fluolid Orangeで標識したcDNAを用いた結果。励起波長473nm、蛍光波長570nm。

ラベリングキットはClontech社のAtlas PowerScript Fluorescent Labeling Kitを用いた。

５．まとめと今後の課題

本事業では、合計４回の WG 会議を開催しガイドライン案についての意見交換を行うとともに、企業ヒアリングの実施、内外開発動向の調査、実験による検証などを行ない、標準化コンソーシアムの設立に対しても支援を行った。１年に満たない短期間でこれだけの成果を得ることができたのは、ガイドライン作成に実際に関わった委員や調査を行ったメディビック社、また、試験研究を行った研究者及び事務局スタッフの貢献が大きい。ここに謝意を表する。

本事業では、厚生労働省との連携も図りつつ、必要に応じてガイドライン案の提示や情報交換を行ないながらガイドラインの作成を行った。開発ＷＧの役割は、以下のように要約できる。

（１） 審査ガイドラインに対する技術的協力

迅速な審査を可能とする審査ガイドラインに対して、技術情報、評価方法、評価物質などを提供する。

（２） 円滑な開発や承認申請を可能とする手引き（手引き書、解説書）を提示し、必要に応じてＪＩＳ提案、基準物質や試験方法を提案して手引き書に加味する。現在、医療機器の承認審査には、基準（承認、認証）と通知が重視され、ガイドライン、学術論文、手引き書などは参考資料として活用されている。

（３） 開発企業から技術や装置に関する情報を集約し問題点を洗い直すことで、企業における開発の指針になるような開発ガイドラインを策定する。

今年度は、国内外の企業による開発が進んでいるジェノタイピング用の DNA チップについて検討を行い、診断を目的とする遺伝子発現プロファイリング用の DNA チップに関しては除外した。遺伝子発現プロファイリング用の DNA チップについては、当初、開発にはまだ時間がかかると予想されていたが、平成１９年２月に米国 FDA により Agendia 社の乳癌転移リスク評価のための DNA チップ（商品名：MammaPrint）が IVDMIA（In Vitro Diagnostic Multivariate Index Assay）として初めて承認された。これにより、我が国でも遺伝子発現プロファイリングを基礎とした診断用 DNA チップの承認申請がなされる可能性が高まった。したがって、今後、遺伝子発現プロファイリングによる診断のための DNA チップのガイドラインが必要になることは十分予想される。このような世界的な動向を受けて、我が国でもバイオインダストリー協会などにおいて DNA チップの標準化が進められてきた（参考資料「4.2 財団法人バイオインダストリー協会」参照）。しかし、医療・健康分野における DNA チップ及び関連する遺伝子情報解析ツールの標準化は特に緊急の対応を要する案件であることから、本事業においてヒアリングを行った企業を中心に「バイオチップコンソーシアム（仮称）」を設立することになった。平成１９年３月には設立準備検討会が開かれ、２０社以上が集まり今後の活動について議論を行った。このような動きは、本事業の成果のひとつであり、策定したガイドラインが企業に活用されるための重要な道筋のひとつになると期待される。

参考資料

１．テーラーメイド医療用診断機器（DNA チップ）開発 WG 会議概要

1.1　第１回 DNA チップ合同 WG 会議

開催日　平成 18 年 10 月 30 日

（１）概要説明

・開発 WG・審査 WG 事務局挨拶

・経産省・厚労省挨拶（今年度の基本方針など）

・委員の紹介・議長選出

・医療機器ガイドライン事業及びテーラーメイド医療用診断機器ガイドライン事業の概要説明

（２）総合討論

・FDA ガイダンスの現状と米国における承認状況

FDA 資料「薬剤代謝酵素遺伝子型同定システム」と「薬理遺伝学的検査及び遺伝的マーカー向け遺伝子検査」について説明。体外診断用医薬品のカテゴリーと承認制度、薬事法における資料の必要性に関する医薬食品局長通知、医療機器審査管理室長通知に関する説明と討論を行った。

・DNA チップの技術的問題点

Nature biotechnology 誌資料を用いた説明。DNA チップデータを含めた薬事申請の増加とともに、データの形式などを整える傾向にあり、そのために企業を中心にしたコンソーシアム（MAQC コンソーシアム）を設立してガイドラインを作ろうとしている。検討内容としては、プラットフォーム間の差の検討、基準 RNA を用いた検討、１色法と２色法との比較、３ヶ所の研究期間で得たデータの差の検討に関する説明と討論を行った。

・株式会社東芝による企業開発の現状に関するプレゼンテーション。

・ガイドライン検討項目に関する討論。

1.2 第１回 DNA チップ開発 WG 会議

開催日　平成 18 年 10 月 30 日

（１）開発 WG 分担内容の検討

・「体外診断薬承認基準」について説明：医薬品医療機器総合機構において薬事審査が行われることを説明し、その薬事基準（承認基準）を参考にして、DNA チップに関して試験法、測定方法、統計処理、基本要件（リスクマネジメント、性能、製品の寿命、性能評価の内容、有効性など）に関してその薬事基準作成に役立つガイドラインの作成を委員に依頼した。

・DNA チップをまずジェノタイピングとプロファイリングに分け、今回は、ジェノタイピングを先行させることを確認した。

・メーカーでは区別し、技術的な困難さも異なるため、ジェノタイピングに絞るべきという意見があった。
・事例を中心に議論を進めることを確認した。企業から例を出すのは難しいので、AmpliChip の例や FDA 資料を使って議論を進める。
・企業を入れるのであれば、製薬企業から委員を選出することを議論し、全員の意見の一致を見た。

（2）調査分担
・機器とチップを分けて議論することは困難であるとの意見が出た。
・制度上、機器と診断薬は別に議論することになる。今回は、申請に近いところで議論することになるので、開発メーカーにプレゼンテーションを求めたいとの意見があり、委員の意見として事務局に要請があった。
・事務局では国内メーカーの調査を行っており、開発メーカーに対する調査を加えることを了解した。

（3）報告書作成（内容と分担）
・ある程度検査薬のレベルでクリアしておいて、診断薬として使えるかどうかを審査するような２段構えが必要であるという意見が委員から出た。
・ガイドラインを作る作業を企業がユーザーもいれて行うことはないのかという委員からの質問に対し、別の委員の説明では、全くないという説明があった。
・コンソーシアムの様な形ができればユーザーを入れたガイドライン作成が可能ではないかという意見があった。
・他の医療機器ガイドラインで取り扱っているものは生体に直接関与するものだが、DNA チップはそうではないので、体外診断薬としてフォーカスしやすいはずという意見があった。
・本ガイドラインの作成が必要になった理由について説明を行い、これまで体内に入れる治療機器だけを対象にしていたので、診断系のガイドラインが無かった点を事務局から説明した。診断系のガイドラインのモデルケースになることを強調した。
・次回の委員会では分担を具体的に決める予定であることを確認した。
・経済産業省の生物化学産業課でもバイオチップに関して調査を行ったので、その成果を活用して欲しいとの意見が出た。また、企業等にヒアリング等をすることも可能であるとの説明があった。この点に関しては、次回までに事務局で検討することとした。

1.3 第２回 DNA チップ開発 WG 会議

開催日　平成 18 年 11 月 29 日

（1）第５回合同検討会（11 月 24 日開催）報告
・ジェノタイピングの DNA チップに関しては急いでガイドラインを作ることを委員の間で確認した。また、プロファイリングに関しては、そのあとに検討する点、また、開発 WG では、「装置開発企業及び診断薬開発

企業へのヒアリング調査」と「企業によるマイクロアレイ品質管理コンソーシアムによるガイドライン詳細検討」を中心に進める点を確認した。
・審査側ではジェノタイピングは感染症とホスト自身のジェノタイピング及びプロファイリングの３点と、解析装置自身も考慮すること、さらに、企業あるいは開発側の WG グループの協力が必要であることを報告した。

（２）DNA チップ開発事例に関するヒアリング
「遺伝子検査の臨床応用に向けて」（開発企業）

（概要）
臨床検査事業の説明と、その臨床検査としての必要な要件と課題、米国の状況、最後に弊社の考え方とその取組をまとめた。NACB（National Academy of Clinical Biochemistry）の"Pharmacogenetics Practice Guidelines"で、特に薬剤感受性遺伝子を対象にして、臨床検査の現場に遺伝子検査のガイドラインを説明している。ここでは、ジェノタイピングではシーケンスデータがゴールデンスタンダードであると提案している。今後、臨床検査と医療の現場において、精度を維持するためのコントロールがまず必要である。検査の手法と性能は各社の技術、商品の進展・進歩に応じてユーザーがいちばん良いのを選択すればいい。従来の臨床検査と同じ考え方で市場が形成されていく物と予想している。

（質疑応答）
（質問）多品種少量検査とアレイの共通化は共存できるのか。
（回答）前処理の段階でユニバーサル化して、常に同じチップで測って結果を得るシステムを考えている。最初のプライマーあたりで個別化を図り品質管理を確実に行う。アレイを大量生産すると品質も上がりコストも低減される。
（質問）シーケンスがゴールデンスタンダードとあるが、シーケンスは 100%正しいのか。
（回答）100%正しくはないが、いちばん信頼性は高いと思われる。
（質問）標準物質は必要か。
（回答）100%確実でなくてもエラーレートを見極めるためのコントロールは必要かもしれない。
（意見）ウイルス感染症の判定のための SNPs の場合は標準物質は必要。測るウイルスや菌体などの DNA として。
（意見）標準化と計測は同時進行で進める必要がある。データの精度の管理や測定法から診断用チップの感度がどのくらい必要かがわかる。たとえばスキャナー間の読み取りの誤差も 0.何%の違いでも 50 万箇所では 500 箇所の違いとなる。それを検定する標準物質が必要であり、そのためにコンセンサスを作る必要がある。

（３）国内外の開発動向についての調査の中間報告
「2007 年版ワールドワイド・バイオチップ&装置市場の動向と展望」（抜粋）の説明
（バイオチップの製品一覧、Affymetrix 社などの開発ロードマップなどについて説明）

（４）診断 DNA チップ開発ガイドライン検討項目の決定

FDA 資料「クラスⅡ特別規制ガイダンス文書：薬剤代謝酵素遺伝子型同定システム」概要の説明

・委員からの意見は、510(k)は臨床的意義が明らかになっている場合を対象とする検査法で、ここではシーケンスとの相関を明らかにするだけでよい、治験で臨床的意義を証明するのは困難である点、日本でもその立脚点から議論するなら非常に楽であるという意見が出た。

・遺伝子型同定システムは、遺伝子の発現（挙動）ではなく、遺伝子の形状（配列）を調べる。Modern Drug Discovery の記事によれば、最初は試験試薬(ASR)として販売したが、FDA から指摘があって検討した結果、クラスⅡで 510(k)対象ということになったという経緯に関して説明があった。

・ガイドラインで議論するのは、研究開発レベルなのか、実用化レベルなのかに関して質問があり、議論の中では薬の影響まで考える必要があるのではないかという意見が出た。

・研究試薬として許認可とは関わらずに販売は可能だが、市場としては広がらないのではないかという意見が委員からあった。

・報告書にこのような評価に関する議論を盛り込みたいという点で委員の間で意見の一致を見た。ガイドライン検討項目は、前回の検討会で検討した内容を踏まえて、今年度はジェノタイピングに特化したい。検討項目は大きく分けて、①装置・方法、②標準法及び標準物質、③評価（医療経済も含めて）の３つに分けて作業を行うことを決定した。

（５）ガイドライン策定のためのサブ WG の設置について

・検討項目の作業のために、次のサブ WG を設置する。

①装置及び方法

②標準実験法及び標準物質

③評価

・JBA で DNA チップの標準化の議論をしており、意見交換をしたいという意見が出た。昨年は NEDO の委託による調査事業で、臨床検査会社も参加したという経緯の説明があった。また、今年度は他の事業で標準化に関して調査を進めている点と、DNA だけでなく RNA（遺伝子発現）も議論している点に関して説明があった。

・今年度は、ガイドライン検討事項はジェノタイピングにフォーカスするが、今後のためにもプロファイリングの議論もしたいという意見が出た。

・委員から、次のような意見が出た：癌のトキシコゲノミックスでラットの肝臓プロファイリングを行ったが、遺伝子発現は部位によって大きく異なる。そのくらいプロファイリングは難しい。診断用のチップの場合、どうして診断できるのかを明らかにする必要がある。Roche 社アンプリチップでも診断との関係は明らかにしていない。また、特定のジェノタイピングがわかっても、他の代謝要因による個人差があるので、投薬用量の決定にはもう一段階のさじ加減が必要である。

・アメリカのように集中化して患者のタイピングとジェノタイプ、副作用などの議論が必要ではないかという意見が出た。

・医療機器では開発意図に則って開発側が審査側と相談しながら安全性や有効性を証明する必要があるとの意見が出た。さらに、開発者にはその点にリスクがあるため、ここでは開発者に対して薬事法申請書作成の道しるべを示すことが重要であるとの意見が続いた。

・精度に関して、コンテンツ側とデバイス側とを分ける必要があるという意見が出た。特に、デバイスとしての精度をガイドラインで示すことの必要性が強調された。
・まったくデバイスだけでは審査側につながらないので、診断を考えながら DNA チップを見たときのガイドラインを作る必要があるのではないかという意見が出た。
・標準物質については、推奨あるいは検討すべきというところをガイドラインで示すことは重要であるとの議論があり、個々の診断の標準は多すぎて無理だが、基本性能に関する標準物質は出せるはずということで、検討項目に関しては事務局で検討することで意見の一致を見た。

（６）マイクロアレイ品質管理コンソーシアム設立に関して
・米国の状況に関して説明があり、DNA チップの薬事申請データとしての申請数が急増しているが、FDA ではその信頼性を担保する必要があり、MAQC コンソーシアムを作ったという経緯の説明と、さらに、このような問題は日本でも近未来に起こることが予想されるので、我が国でもこのようなコンソーシアムを作る必要があるのではないかという意見が出た。委託調査でもヒアリングした企業からそのような意見が出ている点を根拠としてあげた。
・委員の意見としては、標準化や標準試料の管理はコンソーシアムが適当であり、さらに DNA チップメーカーだけでなく、検査センターなども入ってくることが予想されるという意見があった。
・JBA でのアクティビティーの紹介が参考になるのではないかという意見が出た。また、特許の問題もあり、業界を全部まとめないと進まない点が議論された。これらの点に関しては、具体的
には次回に議論することで委員の了解を得た。

1.4 第３回 DNA チップ開発 WG 会議

開催日　平成 19 年 1 月 18 日

（１）診断用 DNA チップ標準化に対する取り組みの紹介
「遺伝子発現検査の標準化（核酸標準物質の整備及び実験プロトコールの標準化）に向けての取り組み」
（財団法人　バイオインダストリー協会）

（概要）
　我々は、DNA チップの総合規格化に向けてここ数年取り組んできており、昨年度は NEDO の調査事業を行った。その結果、プラットフォーム間の互換性の確保のためには、解析プロセスを通して全体の標準化及び標準あるいは基準物質の利用が必要不可欠だという結論に達した。今年度は産学官の三者で委員会を構成して、特に遺伝子発現について調査を行っている。RNA サンプルは例えば培養細胞からとって、異なる会社のプラットフォームを用いて比較している。比較には、標準となる RNA サンプルが必要であり、その安定性や内部標準利用などの検討が必要である。もう一つは、データの質の保証をどこまでできるかで、たとえばプラットフォーム間のデータの補正を行うことが必要である。標準 RNA 作成には、産総研、徳島大、長浜バイオ大が

協力している。最終的には、国内標準化、そして国際標準化へと進むために、DNA チップデータの質の保証をどこまでできるかを検討したい。

（質疑応答）

（質問）標準物質は無償か有償化は別にして、どこかで提供するのか。

（回答）検討している。そのために調製法や品質保証などの検討が必要。

（質問）アメリカでは標準物質の前にプロトコールやプラットフォームの標準化を検討しているが。

（回答）ある程度保証されたRNA を提供することで対応できる。両方を並行することが重要。

（質問）１色法と２色法の検討は。

（回答）プロトコール自体は同じと考えてよい。データとしては補正が必要。

（質問）臨床の現場からすると、検体の採取や輸送時の安定性が重要に思えるが。

（回答）難しい問題。分解の程度によりその先の解析内容を保証するようなインデックスが必要。

（質問）国内企業は標準化の意識は高いのか。

（回答）余り高くないので問題である。中国などは国策の中心にしており、国際標準化戦略としては重要である。検査会社は検体RNA に一定の品質保証を必要としており、注目している。

（意見）研究現場でも検体RNA の品質は問題になっている。論文発表の際にも厳しく問われる。

（質問）標準物質を設定しても検体の取り扱いによるエラーは補正されない。技術評価用の試料が必要ではないか。

（回答）そのとおり。保証されたRNA を提供することでトレーニングに使うことができる。

（２）第２回開発ワーキンググループ委員会の要点と補足資料の説明

第２回DNA チップ開発WG 会議（平成18 年11 月29 日開催）概要説明

Modern Drug Discovery 誌記事「アレイとFDA」（2004 年6 月）の内容説明

（３）診断DNA チップ開発ガイドラインサブWG 別項目検討

・サブWG 別項目検討内容として、以下の点を確認した：前回、標準物質、測定装置あるいは評価方法の３つに分けることを決めた。全体にかかわる部分、ガイドラインの意義や目指すところも必要。標準物質に関しては、バンクの必要性、標準物質の解析手法やプロトコールの標準化は必要で、測定の感度、正確性の検定、装置の標準化などの項目が考えられる。測定装置に関しては、体外診断薬とのペアで考える必要がある。また、原理と構造、チップの特異性、感度、ダイナミックレンジ、再現性に関する記述が必要。評価については、ジェノタイピングについては、塩基配列が最終判断の根拠になる。解析ソフトも必要かもしれない。

・標準物質について、前回の会議で FDA ガイドラインの中に「バリデーションにはヒトゲノムを用いる」とあったが、ヒトゲノムを用いる場合と例えば非常に稀な変異を扱う場合、どうしても入手できないものを合成した DNA に置き換えてよいのか、そういったことを想定して合成したものとヒトゲノムを使った場合と、方向を２つに分けて考えるのか、という質問があり、他の委員から、次のような指摘があった。データが取れるのであればよいのではない、寄託している試料を用いることがベストであり、シーケンスが確認されていることが必要である。ただ、レアなもので個人が特定されるので標準化できないことはある。

・ヒトゲノムで検証するのであれば、入手困難なものもでるので、その場合を想定する必要があるのではないかという問題点が出された。この点に対して、開発の段階で使う使わないの議論ができるのか、また実際のデータが取れるのであれば十分ではないかという意見が出された。さらに、レアなものを外すと診断の意味が無くなる場合もあるので、再現性などを検定するためにも使う必要はあるという指摘がなされた。
・この点に関して、「臨床的な意味を考える上で、どこかに寄託しなければいけないというプロセスが生じるのではないか」という意見、「レアな患者がいた場合に、それを標準物質として寄託はできない」という意見、「患者の試料が使えない場合は合成で代用するということが明記されていればよい。レアなので、調べなかったというほうが問題。それから、標準物質は、機能の較正用物質という意味か。レアなものと一般的なものとは分けて考えることも可能。」という意見が出された。また、「確かに、検体のコントロールになるものと、機械の較正用と両方ある。分けていただいて構わない。」という意見が出された。
・標準に関して、８項目のうち最初の３項目は網羅的に書くのかという質問が出された。さらに、国産の技術にある程度絞ることも良いのではないか、特異性や感度はこういう範囲が望ましいという形で良いのか、前処理や保存も各社異なるので難しい、ソフトウエアは FDA ガイドラインが参考になるが、データ処理や品質管理は方式によりかなり違ってくるという意見が出た。これに対して、別の委員から、そのような目安がないから、ガイドラインが必要であるとの意見が出た。
・前処理・保存は機器ごとに違うので、時間や条件によって付ける必要のあるデータについて書く必要があるのかという質問が出た。これに対して、別の委員から、ひとつ何かを例として挙げてこういったプロトコールなどを機械ごとに設定すべきである（望ましい）という意見が出された。さらに、次のような意見も出た。各社の比較が重要なのではなくて、比較の前提は各社が色々考えているということなので、その前提を知る必要がある。ただ、その調査は完全にはできないので、常識で考えるしかない。開発の目標を設定してあげる、例えば、ここまで行くとこういうことができるという形で段階的に目標設定を書いてあげることは可能。グレードによっては、かなりアバウトという表現になるのかもしれないが、その場合は、診断用でもこういうものしか使えないなど、何かいろいろな限定が付いてくる。
・審査ガイドラインができるとフォーカスがはっきりする。最終目的は臨床評価なので、最終目的のためにどれだけ適用性があるかが重要。例えば、安全性の評価。製品になる前に考えることのできるものを入れるのが良いのでは。
・臨床評価試験には患者の試料が必要だが、バンクを利用する場合は、その試料の検討に適切なバンクであるのかを議論することが重要。特に、統計的な信頼感を得るためには検体数が必要で、そのためにはバンクを使うことが必須になる。バンクと新規試料の両方を同時に使うことも可能。それから、希少疾患のように試料が集めにくいので特別審査が必要な場合もある。
・薬事の製造承認も重要。性能と安全性さえ一定の条件を満たせば製造承認を与えることが必要。そうすると実際のデータが集まる。製造承認までに時間がかかると外国製品がどんどん入ってきてしまう。
・（資料「DNA チップにおける課題」の説明）課題を装置、試薬、評価法に分けた。作業者間・施設間差異では、FDA は複数の操作者がいる３施設で検討するように書いてある。この数の根拠を議論すべき。検査試薬・サンプルの廃棄処理については、作業者に対する安全性を考慮することが必要。また、手作業が介在する場合には、そのリスク評価が必要。コントロールと装置の検査法については、陽性陰性コントロール、シグナルの検証法などを検討する必要がある。試薬の安定性、調製後の有効期間なども必要。評価法では、標準品

として、たとえば生ウイルスは使えないのでプラスミドに組み込んだものを使用するので良いのか、対照として検体からのシーケンスが適当か、被験検体の安定性など、様々な問題点を参考として挙げた。
・委員から、標準品の「Validation に用いる標準品の適格性」とは何かに関して質問があり、別の委員から、たとえば、ヒトゲノムを使うべきかあるいは低頻度のものは合成してもいいのかという問題点のルール作りを考えているという回答を得た。

（4）国内外の開発動向についての調査の中間報告の説明
（概要）株式会社メディビックに企業側の開発動向についての委託調査を依頼した。国内 DNA チップメーカーに関する調査、蛍光色素の開発動向調査、DNA チップに使う疾患関連遺伝子に関する調査をまとめた。メーカーに対する調査は、基礎研究用だけではなく、診断、もしくは治療薬の研究開発に関する DNA チップ開発に携わっている国内メーカー、もしくは計測装置や試薬などの DNA チップの周辺の技術、検査などのサービスを行っている企業を中心に、診断用 DNA チップの市場性を認識している課題について、聞き取り調査を行った。

（5）マイクロアレイ品質管理コンソーシアム設立に関して
・調査資料にあるように、コンソーシアムを希望している企業はかなりある。標準化という形で品質管理する組織が必要であるといった考えがあり、予算措置がされている場合もある。
・企業側は、コンソーシアムの設立にはたぶん前向き。ただ、企業だけでコンソーシアムを設立することが望まれる。いろいろな委員会があるが、各企業がばらばらで、何をどう作ればいいのか、標準化とは一体何なのかというところが皆さんわかりかねている。生物化学産業課と検討しており、ヒアリングをメディビックが行っているので、次回の委員会で、メディビック社に調査結果の報告を依頼した。
・チップメーカーが自主的に集まって検討する姿勢は大事。しかし、最後は開発しているチップが実用化できなければ、何のいいこともないので、どのようにしたら実用化に結びつくかを指南するところに開発ガイドラインの意義がある。さらに、理論の部分だけでなく、本ガイドラインが実際にその実効が担保されるためにもパーツの部分は同時並行的に進めていく必要がある。

1.5 第４回 DNA チップ開発 WG 会議

開催日　平成 19 年 2 月 28 日

（1）調査報告
「診断用 DNA チップ開発メーカの課題と標準化への要望」（調査会社）

（概要）DNA チップに関して、現在の市場について、米国の状況について説明し、国内での取り組みに関する調査結果を報告する。10%のシェアを占めていたコードリンクアレイでも市場継続ができない状況になってきており、市場は予想に比べて伸び率が低く、厳しい。診断用 DNA チップは IVDMIA（In Vitro Diagnostic

Multivariate Index Assays）としてFDAの認可が必要。技術的な標準化を進めるためにMAQCコンソーシアムを設立した。現在は、性能評価を行うフェーズIIに入っている。標準化に関して企業ヒアリングをした結果を報告する。市場の動向に関しては、各社技術開発は積極的に行っているが、市場予測、特に、コンテンツ開発費用については正確にはできていない。各社、発現プロファイリングは大きな市場を期待しているが、米国で承認を受けた後に遺伝子だけ替えて国内で申請する手も考えている。特許に関しては、OGT社のライセンスが大きい問題。製造過程に対するロイヤリティー支払が可能。遺伝子特許に関するコストは開発にとって大きな問題になっている。蛍光色素のコストも問題。測定精度再現性を評価するための標準物質は不可欠であり、MAQC でも問題になっている。ジェノタイピングでは遺伝子ごとに臨床試験を行う必要がある。また、マイナーアリールに関する臨床試験はコストの問題がある。標準化に関する意見としては、サンプルの種類や取り扱い、特にRNAの取り扱い（抽出方や保存法）は重要。疾患マーカー遺伝子も重要な問題。メタジーンという概念で遺伝子のセットを使って分類モデルを作る試みが進んでいる。標準化と同時に共同研究を進めるためのパートナー作りも重要。サロン的な場が必要。最近、MammaPrint という遺伝子発現プロファイリング用のDNAチップがFDAの承認を得た。これは、約70個の遺伝子を測定して乳癌の遠隔転移リスクをスコアで示すもの。標準化としては、DNAチップの診断利用における全体を最適化するために標準化をすることが必要。

（質疑応答）
（質問）遺伝子に関する知的財産権は見つけた人が得るのか。
（回答）公開されていない場合もあり、複雑である。プールする形があればよい。
（質問）MammaPrintはmultiplex PCRでも可能か。また、どちらが主流になるのか。
（回答）DNAチップの方が診断の現場には向いているのではないか。
（質問）全体を最適化することと局所的な技術評価とどう区別するのか。
（回答）DNAチップの利用範囲は大きいので、技術ひとつひとつを評価するのではなくて、あるコンテンツにとって必要な技術のレベルを考えるということが重要。その例を出してゆくことが各社の技術の発展にとって必要である。

（２）診断DNAチップ開発ガイドライン案の内容の検討

・概要の部分については、プローブの長さや形体については様々あるが将来の技術はわからないので取り扱いが難しい点、DNAチップの臨床試験をふまえたガイドラインは早計なので臨床検査装置、分析機器としてのガイドラインの策定を目的としたい点に関して意見が出された。
・診断機器の評価に関しては、次のような説明があった。臨床試験のエビデンスは既存のもので代用も可とした。ジェノタイピングの場合は、普通の分析機器よりは診断へもう１歩踏み込んでいる。最終判断は医師に委ねざるを得ない。SNPs解析ができればよいとう程度でその後にどのような情報を追加するかは別。
・「国内外の開発と普及の現状」に関しては、現在、企業コンソーシアム構想を進めている点と、機器に関しては技術の列記くらいしかできないという意見が出された。
・ジェノタイピングの遺伝子に関して、次のような議論が出された：可能なかぎり対象になる全ての遺伝子型を含む必要があるが、まれなタイプはゲノムDNAの混合物、またクローン混合物を使用しても良いとした。

「感度ダイナミックレンジ」については最初の DNA 濃度の記載で良いとした。「再現性」の記載についてはFDA に準拠した。ソフトウェウエアに関しては、SNPs 判定のアルゴリズムは明確にする必要がある。

・審査を早く進めるため、また審査に持ち込むまでの時間がかからないようにガイドラインを作るので開発側の提案が重要。
・薬事審査の手引きは厚労省が作る。しかし、企業側の意見を反映したガイドラインを作る必要がある。
・ガイドライン的な審査方法と、ヨーロッパのように ISO 的な審査方法とある。ISO は細かすぎる。
・医療機器が審査を通ると審査基準ができ、何台も通ると標準ができる。審査の通っていないものにガイドラインを作ることで機器の臨床利用の加速化が可能になる。米国ではコンソーシアムと FDA との間のコミュニケーションが進んでいる。そのようなガイドラインが必要。FDA のコンセプトペーパーやフレームワークに相当するものに相当するのではないか。
・「装置」の項目に関しては、漠然と書いて装置機器メーカーに任せるのがよいのではないか、「特異性」や「感度」は内容があまりにも厳しくならないように、との意見が出された。
・ガイドラインではエビデンスを示して試験法などを詳しく書くのがよい。「．．．が望ましい」という表現が適切。

・余り厳密な目安とならないよう「データ解析・解析ソフト」では「正答率の基準としては、心筋梗塞診断や妊娠判定に用いられるキットの正答率を一応の目安とする」とした。「比較試験・臨床評価試験」は、既存のものがあれば非劣勢でも可とする、臨床評価試験は必要だが存在比が極めて小さい場合は合成資料の代用を認める、また、臨床評価の中で有用性は参考文献がある場合はその文献をつけることで臨床試験と同じ効果を持たせる、などの点を検討した。「データ管理」に関しては、開発者に負わせるのは酷なので別途検討する。また、承認申請に関しては、オーファンドラッグのような優先的な取り扱いを要望事項にいれた。
・このガイドラインは臨床的な有用性には踏み込まないということなので、心筋梗塞診断や妊娠判定と同じレベルでの機器の性能の判定にはならないはず。
・開発 WG として正答率は記載すべきだが、失敗した分析も記載するということでどうか。
・標準物質については、一次標準品としてヒトのゲノム DNA であるが、稀な遺伝子型は必ずしも用意しなくて良いとした。二次標準品としてはプラスミド DNA などを用意すればよい。細胞株は公的機関で用意できれば中小メーカーにとってはよい。例えば定期的な品質管理する必要があるために公的機関が業務を行うことが妥当。
・ガイドラインそのものでないにしても、そういう意見をガイドラインに入れることは重要。

（３）今後の課題ほか
・委員からコンソーシアムに関して、次のような報告があった：コンソーシアムを設立するために委員会を設置する。企業２１社が集まっており、経産省の協力も期待できる。企業の活性化にもコンソーシアム設立は重要。

・一方、プロファイリング用 DNA チップについては今年度は取り上げなかったが、非常に大きい問題であり、今後ますます重要になるという意見が出された。特に、MammaPrint がでてきたので日本でも何らかのガイドラインが必要になることが指摘された。

2. 関連文献、調査資料

2.1 米国FDA翻訳資料及びMAQCコンソーシアム翻訳文献一覧

（資料の概要）

1-8及び20：FDA資料

9-19：NATURE BIOTECHNOLOGY誌2006年9月号（Vol. 24, No.9）

21：J. Natl .Cancer Inst. 2007; 99:147-157

（資料）

1. 産業界及びFDAスタッフ向けガイダンス：クラスII特別規制ガイダンス文書：
第5因子ライデンDNA変異検出システム
文書発行日：2004年3月16日
（原文）Guidance for Industry and FDA Staff: Class II Special Controls Guidance Document: Factor V Leiden DNA Mutation Detection Systems

2. CYP2C19用のAmpliChip CYP450 Test：510(k)概要
2005年1月10日
（原文）AmpliChip CYP450 Test for CYP2C19 510(k) Summary

3. 510(k)実質的同等性の判定：決定の概要：分析法のみのテンプレート
（原文）510(k) Substantial Equivalence Determination Decision Summary Assay only Template

4. 510(k)実質的同等性の判定：決定の概要
分析法と機器の組み合わせテンプレート
（原文）510(k) Substantial Equivalence Determination Decision Summary Assay and instrument Combination Template

5. 産業界及びFDAスタッフ向けガイダンス：クラスII特別規制ガイダンス文書：薬剤代謝酵素遺伝子型同定システム
文書発行日：2005年3月10日
（原文）Guidance for Industry and FDA Staff: Class II Special Controls Guidance Document: Drug Metabolizing Enzyme Genotyping System

6. 産業界及びFDAスタッフ向けガイダンス：クラスII特別規制ガイダンス文書：
臨床多重検査システム用計装
文書発行日：2005年3月10日

（原文）Guidance for Industry and FDA Staff: Class II Special Controls Guidance Document: Instrumentation for Clinical Multiplex Test Systems

7. 産業界及び FDA スタッフ向けガイダンス：クラス II 特別規制ガイダンス文書：
CFTR 遺伝子変異検出システム
文書発行日：2005 年 10 月 26 日
（原文）Guidance for Industry and FDA Staff: Class II Special Controls Guidance Document:CFTR Gene Mutation Detection Systems

8. 産業界及び FDA スタッフ向けガイダンス：薬理遺伝学的検査及び遺伝的マーカー向け遺伝子検査
文書発行日：2006 年 2 月 9 日
（原文）Draft Guidance for Industry and FDA Staff: Pharmacogenetic Tests and Genetic Tests for Heritable Markers

9. NATURE BIOTECHNOLOGY, Vol.24, No.9, 2006, 1039
マイクロアレイを最大限に活用する（編集記）
（原文）Making the most of microarrays (EDITORIAL)

10. NATURE BIOTECHNOLOGY, Vol.24, No.9, 2006, 1103
規制を前提としたマイクロアレイの強化（コメンタリー）
Daniel A. Casciano & Janet Woodcock
（原文）Empowering microarrays in the regulatory setting (COMMENTARY)

11. NATURE BIOTECHNOLOGY, Vol.24, No.9, 2006, 1105-1107
Number of submissions FDA に提出されるゲノム・データに対するマイクロアレイ・データの品質の影響
Felix W. Frueh
（原文）Impact of microarray data quality on genomic data submissions to the FDA

12. NATURE BIOTECHNOLOGY, Vol.24, No.9, 2006, 1108-1111
米国環境保護庁におけるゲノミクスデータ利用の枠組み
David J Dix, Kathryn Gallagher, William H Benson, Brenda L Groskinski, J Thomas McClintock, Kerry L Dearfield, & William H Farland
（原文）A framework for the use of genomics data at the EPA

13. NATURE BIOTECHNOLOGY, Vol.24, No.9, 2006, 1112-1113
ゲノミクス及びマイクロアレイにおけるデータ品質
Hanlee Ji & Ronald W Davis

（原文）Data quality in genomics and microarrays

14. NATURE BIOTECHNOLOGY, Vol.24, No.9, 2006, 1115-1122
定量遺伝子発現プラットフォームと比較した DNA マイクロアレイ結果の評価
Roger D Canales, Yuling Luo, James C Willey, Bradley Austermiller, Catalin C Barbacioru, Cecilie Boysen, Kathryn Hunkapiller, Roderick V Jensen, Charles R Knight, Kathleen Y Lee, Yunqing Ma, Botoul Maqsodi, Adam Papallo, Elizabeth Herness Peters, Karen Poulter, Patricia L Ruppel, Raymond R Samaha, Leming Shi, Wen Yang, Lu Zhang & Federico M Goodsaid
（原文）Evaluation of DNA microarray results with quantitative gene expression platforms

15. NATURE BIOTECHNOLOGY, Vol.24, No.9, 2006, 1132-1139
マイクロアレイ性能評価のための外的 RNA コントロールの評価
Weida Tong, Anne Bergstrom Lucas, Richard Shippy, Xiaohui Fan, Hong Fang, Huixiao Hong, Michael S Orr, Tzu-Ming Chu, Xu Guo, Patrick J Collins, Yongming Andrew Sun, Sue-Jane Wang, Wenjun Bao, Russell D Wolfinger, Svetlana Shchegrova, Lei Guo, Janet A Warrington & Leming Shi
（原文）Evaluation of external RNA controls for the assessment of microarray performance

16. NATURE BIOTECHNOLOGY, Vol.24, No.9, 2006, 1162-1169
ラットのトクシコゲノミック調査によるマイクロアレイプラットフォームの横断的分析の一貫性の解明
Lei Guo, Edward K Lobenhofer, Charles Wang, Richard Shippy, Stephen C Harris, Lu Zhang, Nan Mei, Tao Chen, Damir Herman, Federico M Goodsaid, Patrick Hurban, Kenneth L Phillips, Jun Xu, Xutao Deng, Yongming Andrew Sun, Weida Tong, Yvonne P Dragan & Leming Shi
（原文）Rat toxicogenomic study reveals analytical consistency across microarray platforms

17. NATURE BIOTECHNOLOGY, Vol.24, No.9, 2006, 1151-1161
マイクロアレイ品質管理（MAQC）プロジェクトがプラットフォーム間及びプラットフォーム内の遺伝子発現測定の再現性を示す
MAQC コンソーシアム
（原文）The MicroArray Quality Control (MAQC) project shows inter- and intraplatform reproducibility of gene expression measurements
MAQC Consortium

18. NATURE BIOTECHNOLOGY, Vol.24, No.9, 2006, 1123-1131
RNA 試料滴定の利用によるマイクロアレイ・プラットフォームの性能及び正規化手法の評価
Richard Shippy, Stephanie Fulmer-Smentek, Roderick V Jensen, Wendell D Jones4, Paul K Wolber, Charles D Johnson, P Scott Pine, Cecilie Boysen, Xu Guo8, Eugene Chudin, Yongming Andrew Sun, James C Willey, Jean

Thierry-Mieg, Danielle Thierry-Mieg, Robert A Setterquist, Mike Wilson, Anne Bergstrom Lucas, Natalia Novoradovskaya, Adam Papallo, Yaron Turpaz, Shawn C Baker, Janet A Warrington, Leming Shi & Damir Herman
（原文）Using RNA sample titrations to assess microarray platform performance and normalization techniques

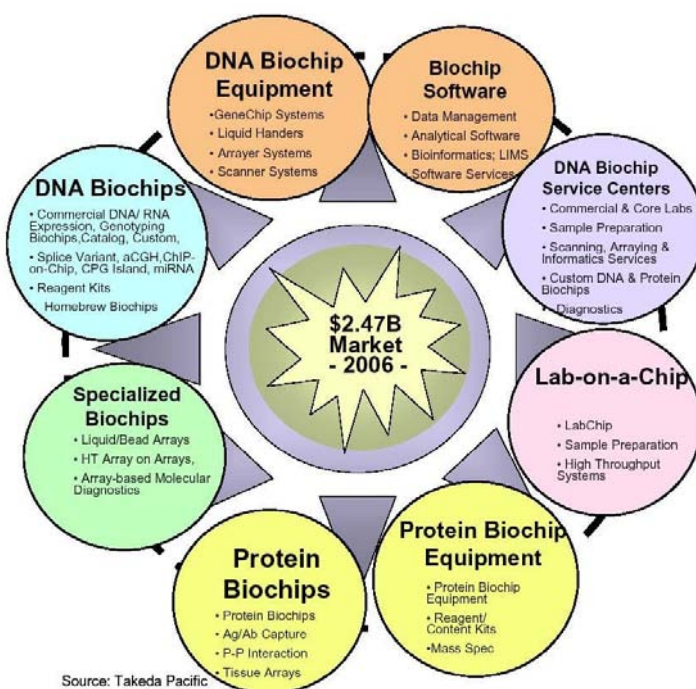
19. NATURE BIOTECHNOLOGY, Vol.24, No.9, 2006, 1140-1150
マイクロアレイ品質管理(MAQC)プロジェクト内での単色型プラットフォームと2色型プラットフォームの性能比較
Tucker A Patterson, Edward K Lobenhofer, Stephanie B Fulmer-Smentek, Patrick J Collins, Tzu-Ming Chu, Wenjun Bao, Hong Fang, Ernest S Kawasaki, Janet Hager, Irina R Tikhonova, Stephen J Walker, Liang Zhang, Patrick Hurban, Francoise de Longueville, James C Fuscoe, Weida Tong, Leming Shi & Russell D Wolfinger
（原文）Performance comparison of one-color and two-color platforms within the MicroArray Quality Control (MAQC) project

20.ゲノムデータの作成と提出のための提言：コンセプトペーパー
2006年11月
（原文）Recommendations for the Generation and Submission of Genomic Data
Concept Paper

21.がんの転帰に関する公表済みマイクロアレイ研究の批判的レビュー及び統計解析と報告のガイドライン
J Natl Cancer Inst 2007; 99: 147-157
（原文）Critical Review of Published Microarray Studies for Cancer Outcome and Guidelines on Statistical Analysis and Reporting
Alain Dupuy, Richard M. Simon

2.2　海外調査資料抜粋

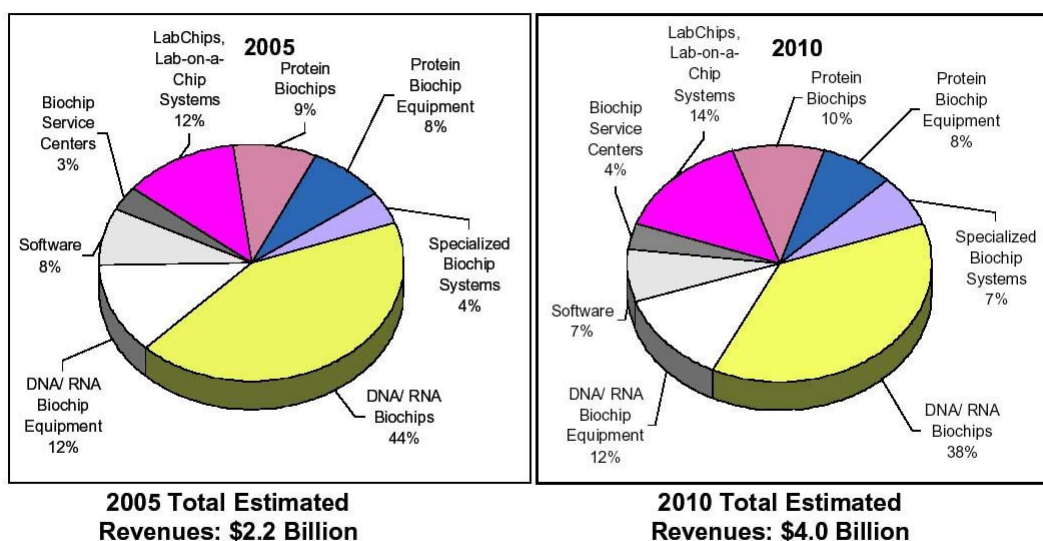
「 2007 年版ワールドワイド・バイオチップ
&装置市場の動向と展望」
統計資料
（ Fuji-Keizai USA）

バイオチップ・ベンダー市場の全体像

バイオチップ内訳市場の推移と規模予想

WW Market Est. $M	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	CAGR
Total	2,019.0	2,244.7	2,476.7	2,781.3	3,114.4	3,514.1	4,001.0	12.1%
1.DNA／RNA バイオチップ	914.0	959.9	1,012.8	1,104.4	1,205.4	1,338.3	1,513.7	8.8%
2.DNA／RNA バイオチップ装置	268.7	279.8	313.6	345.5	394.0	439.8	495.6	10.7%
3.ソフトウエア	169.6	176.4	194.9	215.3	237.9	262.9	289.5	9.3%
4.バイオチップ・サービスセンター	61.4	74.7	85.2	100.8	113.1	131.8	146.4	15.6%
5.ラボチップ、ラボオンチップ・システムズ	184.9	274.8	311.5	368.4	428.9	498.4	576.7	20.9%
6.タンパク質バイオチップ	180.4	199.1	237.4	277.3	308.1	347.2	395.6	14.0%
7.タンパク質バイオチップ装置	161.7	182.2	202.8	227.0	251.6	277.4	306.3	11.2%
8..特殊バイオチップシステムズ	78.3	97.8	118.5	143.6	175.4	218.3	277.2	23.5%

バイオチップ・セグメント市場のシェア
2005 年と2010 年

2005 Total Estimated Revenues: $2.2 Billion

2010 Total Estimated Revenues: $4.0 Billion

Source: Takeda Pacific Estimates

現行のビジネス状況一覧表

Segment	Company	Techno-logy	Sales Rank	'05Sales $M	P/L $M	Funding Status	Patents	Growth
Biochip	GE Healthcare Bioscience	Device	#1	3,255.0	166 E	Public	858	High
Equipment	Applied Biosystems	Device	#2	1,787.1	236.9	Public	228	Low
Content	Sigma-Aldrich	Reagents	#3	1,666.5	258.3	Public	250	High
Biochip	Agilent Tech LSCA	Device	#4	1,421.0	197.0	Public	9	Mid
Content	Invitrogen	Reagents	#5	1,198.5	48.6	Public	600	High
Equipment	Bio-Rad Labs	Device	#6	1,181.0	81.6	Public	45	Mid
Equipment	PerkinElmer L&AS	Device	#7	1,081.2	110.2	Public	330	Low
Biochip	Affymetrix	Device	#8	367	57.5	Public	1077	Mid
Equipment	Tecan	Device	#9	265.7	54.7	Public	180	High
Equipment	Caliper Life Sciences	Device	#10	87.0	-14.5	Public	142	Mid
Content	Gene Logic	Software	#11	79.3	20.2	Public	8	Low
Biochip	Illumina	Device	#12	73.5	-20.9	Public	131	High
Biochip	Clontech/ Takara Bio	Device	#13	64.0	5.2 E	Public	82	Mid
Biochip	Whatman S&S Biosciences	Device	#14	34.2	2.4 E	Public	156	High
Biochip	Telechem International/ Array-it	Device	#15	20.0	1.2 E	Private	3	High
Content	Spotfire, Inc.	Software	#16	17	2.1 E	Private	3	Mid
Biochip	NimbleGen	Device	#17	15.3	8	Private	18	High
Biochip	CombiMatrix	Device	#18	8.0	-12.4	Public	31	Low
Biochip	Panomics	Device	#19	6.1	-8.1 E	12.2 (VC)	26	Low

特許所有状況1

Segment	Company	Technology	Product Area	Patents
Biochip	Affymetrix	Device	DNA biochips, Scanner, Semiconductor manufacturing methods	1077
Biochip	GE Healthcare Bioscience	Device	CodeLink biochips, reagents, equipment methods	858
Equipment	Invitrogen	Device	Reagents, equipment, etc	600
Equipment	PerkinElmer L&AS	Device	Equipment, reagents used in DNA array work	330
Content	Sigma-Aldrich	Reagents	Reagents for sample prep, labeling, etc	250
Equipment	Applied Biosystems	Device	Biochips, reagents, equipment	228
Equipment	Tecan	Device	Scanning, automated hybridizing	180
Biochip	Whatman S&S Biosciences	Device	Coatings to glass slides, arraying, glass making	156
Equipment	Caliper Life Sciences	Device	Lab automation robotics integration to liquid handling equipment	142
Biochip	Illumina	Device	Bead based biochip methods, scanner design, optical detection, Oligator oligo synthesis methods	131
Biochip	Clontech/ Takara Bio	Device	Biochips, reagents, equipment, consumables	82

特許所有状況2

Segment	Company	Technology	Product Area	Patents
Biochip	Oxford Gene Technology	Device	Manages the intellectual property of microarray pioneer Edwin Southern.	23
Equipment	Bio-Rad Labs	Device	Equipment, reagents used in DNA array work	45
Biochip	CombiMatrix	Device	Software controlled fluidic based biochip method for benchtop production, reagents, content, equipment	31
Biochip	Panomics	Device	Molecular biology methods to make biochips, reagent development	26
Biochip	Oxford Gene Technology	Device	Manages the intellectual property of microarray pioneer Edwin Southern.	23
Biochip	NimbleGen	Device	Optical array design, reagents, scanning	18
Biochip	Agilent Tech LSCA	Device	Biochips, reagents, equipment	9
Biochip	Telechem International/ Array-it	Device	Biochips, reagents, consumable, scanner design, arrayers	3
Content	Spotfire, Inc.	Software	Analytical software methods	3

(Source: Public company documents; European Patent Office; Takeda Pacific assessments)

市場シェア＆規模：　2005　年

Application Segments	Share %	2005 $M
Drug Discovery	35%	495.1
Drug Development	31%	438.5
Clinical Trials	15%	212.2
Molecular Diagnostics	11%	155.6
Biosecurity	3%	42.4
Personal Identity	3%	42.4
Agriculture	1%	14.1
Environmental	1%	14.1
Total	**100%**	**1,414.5**

(Source: Takeda Pacific Estimates)

３．企業等ヒアリング資料

3.1　オリンパス株式会社

概要を参考資料「第２回ＤＮＡチップ開発WG会議」に記載した。

3.2　財団法人バイオインダストリー協会

概要を参考資料「第３回ＤＮＡチップ開発WG会議」に記載した。

3.3　株式会社メディビック

概要を参考資料「第４回ＤＮＡチップ開発WG会議」に記載した。

この報告書は，平成１８年度に独立行政法人　産業技術総合研究所が、経済産業省からの委託を受けて実施した成果を取りまとめたものです。

平成１８年度　戦略的技術開発委託費

医療機器開発ガイドライン策定事業

（医療機器に関する技術ガイドライン作成のための支援事業）

テーラーメイド医療用診断機器分野（ＤＮＡチップ）

開発WG報告書

連絡先

〒100-8901

東京都千代田区霞が関１－３－１

経済産業省商務情報政策局サービス産業課　医療・福祉機器産業室

TEL：03-3501-1562

FAX：03-3501-6613

URL：http://www.meti.go.jp/

発行

〒305-8564

茨城県つくば市東１－１－１

独立行政法人　産業技術総合研究所　人間福祉医工学研究部門

医療機器開発ガイドライン検討実務委員会

TEL：029-861-7014

FAX：029-861-7848

E-Mail：human-ws@m.aist.go.jp